

ISSN 1563-034X
Индекс 75880; 25880

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Экология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия экологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EURASIAN JOURNAL

of Ecology

№1 (54)

Алматы
«Қазақ университеті»
2018



ХАБАРШЫ

ЭКОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ № 1 (54)

ISSN 1563-034X
Индекс 75880; 25880



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

Куәлік №956-Ж.

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады

ЖАУАПТЫ ХАТШЫ

Ниязова Р.Е., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)

E-mail: Raygul.Niyazova@kaznu.kz

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

Заядан Б.К., б.ғ.д., профессор, ҚР ҰҒА корр.-мүшесі,
ғылыми редактор (Қазақстан)

Колумбаева С.Ж., б.ғ.д., профессор ғылыми
редактордың орынбасары (Қазақстан)

Жубанова А.А., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Шалахметова Т.М., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Кенжебаева С.С., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

Атабаева С.Дж., д.б.н., профессор (Қазақстан)

Аскарова М.А., д.ғ.н., и.о. профессор (Қазақстан)

Торегожина Ж.Р., к.х.н., и.о. профессор

Баубекова А.С., б.ғ.к. (Қазақстан)

Мамилев Н.Ш., б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

Инелова З.А., к.б.н., доцент (Қазақстан)

Абилев С.К., д.б.н., профессор (Ресей)

Дигель И., PhD докторы, профессор (Германия)

Маторин Д., б.ғ.д., профессор (Ресей)

Рахман Е., PhD докторы, профессор (Қытай)

Томо Tatsuya, PhD докторы, профессор, профессор

Аллахвердиев Сулейман, PhD (Ресей)

ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ

Салмұрзаұлы Р., оқытушы (Қазақстан)

Экология сериясы қоршаған ортаны қорғау және қоршаған ортаға антропогендік факторлардың әсері, қоршаған орта ластаушыларының биотаға және тұрғындар денсаулығына әсерін бағалау, биологиялық алуантүрлілікті сақтаудың өзекті мәселелері бағыттарын қамтиды.



Ғылыми басылымдар бөлімінің басшысы

Гульмира Шаккозова

Телефон: +77017242911

E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

Редакторлары:

Гульмира Бекбердиева, Агила Хасанқызы

Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

Жазылу мен таратуды үйлестіруші

Керімқұл Айдана

Телефон: +7(727)377-34-11

E-mail: Aidana.Kerimkul@kaznu.kz

ИБ № 11863

Басуға 23.04.2018 жылы қол қойылды.

Пішімі 60x84 1/8. Көлемі 12.0 б.т. Офсетті қағаз.

Сандық басылыс. Тапсырыс №1661. Таралымы 500 дана.

Бағасы келісімді.

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, 2017

ШОЛУ МАҚАЛАЛАРЫ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

REVIEW ARTICLES

**Aytasheva Z.G.¹, Zhumabayeva B.A.², Dzhangalina E.D.³,
Rakhimberdi Q.⁴, Shamshadin D.⁵**

¹Doctor of biological sciences, professor, e-mail: Zaure.Aitasheva@kaznu.kz

²Cand.Sci (Biology), assoc. professor, e-mail: Beibytgul.Zhumabaeva@kaznu.kz

³Cand.Sci (Biology), assoc. professor, e-mail: Erika.Dzhangalina@kaznu.kz

⁴Undergraduate student, e-mail: rahymberdikymbat@gmail.com

⁵Graduate student, e-mail: Shamshadyn.daniyar@mail.ru

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

CHALLENGES OF ONGOING CUCURBITS RESEARCH AND FARM GATING

Steady interest to pumpkin biology and breeding in Kazakhstan is confirmed by the former research. *Cucurbita pepo* L. is harvested throughout all the continents under different climate conditions up to 65° northern latitude. For peoples of our and neighbouring countries as populations inhabiting the Silk Road countries in general, pumpkin is one of key ingredients of sustenance. It serves as the bread dough additive and is widely used in national cuisines in the Central Asian region and beyond. Especial significance of pumpkin-based nutrition is explained by its implication in diet food and baby food due to the presence of carious form of carbohydrates, vitamins, organic acids and microelements. Abundance of nutritional composition in association with low cellulose content allows to recommend this melon crop for being included into the diet at diverse inflammation processes. Numerous medicinal applications of pumpkin is associated with cholagogue, diuretic, appetizer, anti-obesity, anti-insomnic, wound-healing, baby food, diet food, anthelmintic, anti-atherosclerotic, anti-aging, anti-eczemic, cosmetic treatment and other effects. One of modern approaches in pumpkin phytoremediation is transgenic generation with programmed set of associated bacteria. This offers further transgenes for their transfer to soils, contaminating with organic pollutants. *Cucurbitaceae* spp. may be involved in postponing the aging process. Recent studies demonstrate that zucchini (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*) is a seasonal vegetable with high nutritional and medical values. A number of useful properties of this fruit were attributed to bioactive compounds. Earlier phylogenetic inter-relationships within the genus *Cucurbita* (pumpkins, squashes, and yellow-flowered gourds) were investigated by comparing wild and domesticated taxa. By screening an intron region from the mitochondrial *nad1* gene as a marker, taxonomic relationships in flowering plants have been clarified to show the route of domestication for the *Cucurbita*. Six or more independent domestication steps arising from distinct wild ancestors have been determined. It was proposed that *Cucurbita argyrosperma* had been domesticated from a wild Mexican gourd, *Cucurbita sororia*, growing in the Southwest Mexico, or the same region that had produced the maize. The wild ancestor of *Cucurbita moschata* remains unclear. Nonetheless, the mtDNA data has indicated that the site of origin could be located in lowland northern South America. The wild ancestor of domesticated *C. pepo* subsp. *pepo* remains unclear. However, it relates to *C. pepo* subsp. *fraterna* stemming out from Southern Mexico. One of targets for Kazakhstan is maintaining and characterizing domestic pumpkin germplasms, manufacturing the pumpkin seed oil and developing pharmaceuticals. So it is critical to study genetic power of the local accessions, expected and observed heterozygosity enhanced by intraspecific and inter-specific hybridization.

Key words: *Cucurbita pepo* L., *Cucurbitaceae*, genetic diversity, genetic origin, squash, phytoremediation, biochemistry, medicine.

Айташева З.Г.¹, Жұмабаева Б.Ә.², Жангалина Э.Д.³, Рахимерди К.⁴, Шамшадин Д.⁵

¹биология ғылымдарының докторы, профессор, e-mail: Zaure.Aitasheva@kaznu.kz

²биология ғылымдарының кандидаты, доцент, e-mail: Beibytgul.Zhumabaeva@kaznu.kz

³биология ғылымдарының кандидаты, доцент, e-mail: Erika.Dzhangalina@kaznu.kz

⁴студент, e-mail: rahyberdikymbat@gmail.com

⁵магистрант, e-mail: Shamshadyn.daniyar@mail.ru

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

Асқабақ дақылдарының заманауи зерттеулері және өсіру

Қазақстандағы асқабақтылардың селекциясы мен биологиясына аса қызығушылық бұрынғы зерттеулерге байланысты. *Cucurbita pepo* L. түрлі климаттық жағдайларда 65 ° N ендікке дейін барлық континенттерде шығарылады. Біздің еліміздің және көрші елдердің халқы үшін, сондай-ақ Жібек белдеуі елдерінің тұрғындары үшін, асқабақ – организмді сауықтырудың негізгі компоненттерінің бірі. Бұл дақыл Орталық Азиядағы және одан тыс жерлерде ұлттық тағамдар ретінде және қамырға қоспа ретінде пайдаланылады. Асқабаққа негізделген тамақтанудың ерекше маңызы оны жеңіл сіңірілетін көмірсулар, витаминдер, органикалық қышқылдар мен микроэлементтердің болуына байланысты диеталық және балалар тағамында қолдануымен түсіндіріледі. Азық құрамының байлығы целлюлозаның төмен құрамымен ұштастырылғанда, осы бақша дақылын әр түрлі қабыну процесіне арналған диетаға қосу үшін ұсынуға болады. Асқабақты әр түрлі сауықтыруда қолдану: өт айдайтын, диуретикалық, төбет ашатын, жара жазатын, антигельминттік, антисклероздық, антиэкземалық сияқты қасиеттеріне байланысты. Сонымен бірге, семіздікпен, ұйқысыздықпен, кәрілікпен күресу қабілеттері үшін пайдаланылады. Косметикалық құралдар ретінде және басқа да әсерлері үшін қолданылады. Соңғы уақытта сондай-ақ асқабақ фиторемедиант ретінде кеңінен пайдаланылады. Осы бағытта асқабақтастарды заманауи қолдану тәсілдерінің бірі – асқынған бактериялардың жиынтығы бар трансген өсімдіктерін өндіру. Бұл органикалық ластағыштармен қаныққан топыраққа көшіру арқылы трансгендерді алуға мүмкіндік береді. *Cucurbitaceae* spp. қартаюдың баяулауына қолайлы жағдай тудыруы мүмкін. Соңғы зерттеулер көрсеткендей, цуккинидің (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*) жоғары қоректік және фармацевтикалық құндылығы бар. Бұл дақылдың көптеген пайдалы қасиеттері биологиялық белсенді заттарға байланысты. Бұрын *Cucurbita* (тамақ және сәндік асқабақ пен кәді) түріндегі филогенетикалық қатынастарды зерттеу жабайы және қолдан өсірілген таксондарды тұраралық салыстыру арқылы зерттелген. Митохондрияның *pad1* маркерлі генінің интрондық аймақтарының скринингі гүлді өсімдіктерінің таксономикалық қосылыстарымен байланысын, сонымен бірге *Cucurbita* тұқымдасының қолдан өсіруге бейімдеу жолдарын көрсетті. Жабайы асқабақты қолдан өсірудің кем дегенде алты тәуелсіз кезеңі анықталды. Болжау бойынша, *Cucurbita argyrosperma* Мексиканың оңтүстік-батысында, жабайы Мексикалық *Cucurbita sororia* түрінен жүгері шыққан аймақта өскені анықталды. *Cucurbita moschata* жабайы шыққан өсімдігі әлі анықталмады. Дегенмен, мускат асқабағының мтДНҚ дерекқоры оның шыққан жері Оңтүстік Американың солтүстігіндегі жазықтық болатындығын көрсетті. Қолдан өсірілетін *C. pepo* subsp. *pepo* асқабағының жабайы түрі әлі белгісіз. Алайда, Оңтүстік Мексикадан шыққан *C. pepo* subsp. *fraterna* түріне ұқсас.

Қазақстанның мақсаттарының бірі – отандық асқабақ генофондының қасиеттерін сақтау және сипаттау, асқабақ майын өндіру және оларға негізделген фармацевтикалық препараттарды дамыту. Сондықтан, жергілікті *Cucurbita* spp. сортүлгілерінің және түрлерінің генетикалық потенциалын, түршілік және тұраралық будандастыру арқылы күтілетін және бақыланатын гетерозиготалық әсерлер күштерін зерттеу өте маңызды.

Түйін сөздер: *Cucurbita pepo* L., *Cucurbitaceae*, генетикалық таралуы, генетикалық шығу тегі, сопақжемісті асқабақ, фиторемедиация, биохимия, медицина.

¹Айташева З.Г., ²Жұмабаева Б.А., ³Джангалина Э.Д., ⁴Рахимерди К., ⁵Шамшадин Д.

¹доктор биологических наук, профессор, e-mail: Zaure.Aitasheva@kaznu.kz

²кандидат биологических наук, доцент, e-mail: Beibytgul.Zhumabaeva@kaznu.kz

³кандидат биологических наук, доцент, e-mail: Erika.Dzhangalina@kaznu.kz

⁴студент, e-mail: rahyberdikymbat@gmail.com

⁵магистрант, e-mail: Shamshadyn.daniyar@mail.ru

Казахского национального университета им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

Современные перспективы исследования и возделывания тыквенных культур

Устойчивый интерес к биологии и селекции тыквенных в Казахстане подтверждается предшествовавшими исследованиями. *Cucurbita pepo* L. возделывается на всех континентах, в

различных климатических зонах вплоть до 65° с.ш. Для населения нашей страны и соседних государств, а также жителей стран Шелкового Пути в целом, тыква – один из основных компонентов поддержания организма. Эта культура используется как добавка к тесту и в качестве национальных блюд в Центральной Азии и за ее пределами. Особое значение питания на основе тыквы объясняется ее применением в диетическом и детском питании, благодаря наличию легкоусвояемых углеводов, витаминов, органических кислот и микроэлементов. Богатство питательного состава в сочетании с низким содержанием целлюлозы позволяет рекомендовать эту бахчевую культуру для включения в диету при различных воспалительных процессах. Разнообразное оздоравливающее применение тыквы связано с желчегонными, диуретическими, аппетит восстанавливающими, ранозаживляющими, антигельминтными, антисклеротическими, антиэкземными свойствами, а также способностью бороться с ожирением, бессонницей, старческими явлениями, выступать в качестве косметического средства и другими эффектами. В последнее время тыквенные также широко используются в качестве фиторемедианта. Одним из современных подходов использования тыквенных в этом направлении является получение трансгенных растений с заданным набором ассоциированных бактерий. Это позволяет получать трансгенные растения для их дальнейшего выращивания на почвах, содержащих органические загрязнители. Cucurbitaceae spp. могут играть благоприятную роль в процессах замедления старения. Недавние исследования показывают, что цуккини (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*) имеет высокую пищевую и фармацевтическую ценность. Многие полезные свойства этой культуры связаны с высоким содержанием биологически активных веществ. Ранее путем сравнения диких и одомашенных таксонов рода *Cucurbita* (пищевые и декоративные тыквы и кабачки) проводилось изучение филогенетических взаимоотношений в пределах этого рода. Скрининг интронных областей маркерного митохондриального гена *nad1* показал таксономические связи цветковых растений, а также схему окультуривания рода *Cucurbita*. Было обнаружено не менее шести независимых этапов одомашивания дикой тыквы. Предположительно, *Cucurbita argyrosperma* происходит от дикого мексиканского вида *Cucurbita sororia*, произрастающего на Юго-Западе Мексики, в районе происхождения кукурузы. Дикий предок *Cucurbita moschata* пока не установлен. Тем не менее, база данных мтДНК мускатной тыквы показала, что место ее происхождения – низменности на севере Южной Америки. Дикий предок культурной тыквы *C. pepo* subsp. *pepo* остается неясным. Однако он является родственником разновидности *C. pepo* subsp. *fraterna*, происходящей из Южной Мексики. Для Казахстана особенно актуальным является поддержание и описание свойств отечественного генофонда тыкв, производство на их основе отечественного тыквенного масла и различных фармацевтических средств. В связи с этим, очень важно изучение генетического потенциала местных сортообразцов и форм *Cucurbita* spp, степени ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности, которые можно усилить за счет внутривидовых и межвидовых скрещиваний.

Ключевые слова: *Cucurbita pepo* L., Cucurbitaceae, генетическое распространение, генетическое происхождение, длинноплодная тыква, фиторемедиация, биохимия, медицина.

Historical background (Introduction)

Kazakhstan is known for steady interest to pumpkin biology and breeding. This statement may be confirmed by Dr. Taisiya G. Gutsalyuk's book "From melon to pumpkin" published in 1989. Homeland of pumpkin, *Cucurbita pepo* L. is referred to Central and South America. Cultivars of domesticated pumpkins has been recorded already 20 centuries ago. The oldest evidence, pumpkin-related seeds dating between 7000 and 5500 BC, was found in Mexico (Hartwell 2012:507). In fact, the centers of origin for the temperate species *C. pepo* and *C. maxima* are located throughout Mesoamerica (Decker 1988:9), whereas the subtropical *C. moschata* originated from northern Colombia (Nee 1990:49). Cucurbits have undergone several independent domestication

events (Whitaker and Carter 1946:11) beginning as early as 10,000 years ago, which pre-dates maize and bean domestication (Smith 1997:932). Even such a history of early domestication witness in favour of wide distribution and utmost significance of this vegetable crop.

To date this vegetable crop is being harvested throughout all the continents under different climate conditions up to 65° northern latitude. For peoples of our and neighbouring countries as populations inhabiting the Silk Road countries in general, pumpkin is one of key ingredients of sustenance. It serves as the bred dough additive and is widely used in national cuisines in the Central Asian region and beyond. Especial significance of pumpkin-based nutrition is explained by its implication in diet food and baby food due to the presence of carious form of carbohydrates, vitamins, organic

acids and microelements. Flesh of the pumpkin fruit containing about 90% of the water is supplied with 9.7-16% of dry matter. Whereas calorificity (calorific value) of pumpkin was estimated to be 22-29 kcal, total sugar content calculated in percentage to wet matter comprises 4.8-8%, starch – 2%, cellulose (cellular tissue) – 1.0-1.2%, wet protein – 0.8-1.0%, pectin – 0.3-1.4%, fats and organic acids – 0.1% each. Some pumpkin cultivars are known to accumulate about 30% of dry matter composed by the sugar (15%), starch (23%), and ash (0.6-1.4%). However, pumpkin is ascribed to vegetable plants with lower amounts of organic acids and cellular tissues comparing to other vegetables. Abundance of nutritional composition in association with low cellulose content allows to recommend this melon crop for being included into the diet at diverse inflammation processes. Relatively low pumpkin's calorificity is the main reason for its recommendation to elderly people as the patients prone to obesity (Gutsalyuk 1989:115 and updates according to the data from www.nutrition-and-you.com/pumpkin and www.webfazenda.ru/pumpkin).

Pumpkin is distinguishable from other *Cucurbitaceae* spp. by more substantial concentrations of vitamins C (8-9 mg per 100 g of wet weight; 4-40 mg in different cultivars), B1 (thiamine, 0.05 mg per 100 g of wet weight), B2 (riboflavin, 0.06-0.11 mg per 100 g of wet weight), B5 (pantothenic acid, 0.3-0.4 mg), B6 (pyridoxine, 0.06-1.6 mg), B9 (folic acid, 14-16 µg), PP (B3, niacin equivalent, or nicotinic acid, 0.6-0.7 mg), E (tocopherol, 0.4-1.0 mg), A (carotene 250 µg, 2500-7384 IU), K (1.1 µg), B3, B5, and elatericin A (Table 1). By the carotene content pumpkin is attributed to exceeding over all the vegetables and many of fruit and berry representatives. Mineral composition is presented by the following macroelements: K (204-340 mg per 100 g of wet weight), Ca (21-25 mg), Mg (12-14 mg), Na (1-4 mg), P (25-44 mg), Cl (19 mg), and S (18 mg). Mature fruits may contain nearly 30% of Cu and 0.016% of S. At the same time microelementary composition includes: Fe (0.4-0.8 mg), Zn (0.24-0.32 mg), I (1 µg), Cu (127-180 µg), Mn (0.040-0.125 mg), Co (1 µg), and F (0.86 mg). These data for American cultivars are summarized below as pumpkin (*Cucurbita* spp.) nutritive value per 100 g.

Medicinal impact of pumpkin was described by the Ancient Greek physician *Dioscorides Pedanius* (c. 40 – 90 AD) in his “De Materia Medica”. Then Pliny the Elder (Plinius Maior, 22-79 AD), and Li Shizhen (1518 –1593) both described pumpkin's healing effects in their proceedings on

medicinal plants. Pumpkin is widely used as strong cholagogue and diuretic medicines during acute and chronic nephritis, hepatitis, stomach ulcer, peptic ulcer of duodenum, against constipation and gout. As health food pumpkin is used for impaired water and salt exchange, edemas associated with heart, kidney, liver diseases or as preventive meal against atherosclerosis. Fruit flesh, seeds, stalks and flowers of pumpkin are used as medicinal raw materials. Fruit flesh is prescribed in grated as fresh forms, in form of pressed juice from raw or boiled pumpkin, as a decoction or a powder apart from a range of different dishes. The decoction of pumpkin stalks is used as the diuretic medicine, whereas the liquor made from the flowers is applied to long unhealing purulent wounds. Composition of pumpkin juice and honey is implied as the demulcent during disturbed sleep or sleeplessness (insomnia). Fresh fruit is applied directly to the sore spot in cases of burns, skin rashes, and eczemas until full recovery.

Pumpkin seeds contain up to 50% of fatty oil, 45% of glycerides of linolenic acid, 25% of glycerides of oleic acid, and nearly 35% of palmitic, stearic acids, phytosterol-cucurbitol, resinous substances, organic acids, vitamins and carotenoids. This pull is successfully used in medical practice. A drug may be proposed in form of mushy substance (porridge), decoction, powder, ointment (emulsion), in natural form with sugar addition (honey-like substance or jam for better taste or appetizer). The seeds are also used as anthelmintic drug without any side effect. Treatment is usually repeated several times with 2-3 days intervals. For medical purposes the seeds are normally dried at room temperature, without over-heating. Freshly collected seeds have been recorded to possess greater healing impact than those of previous years of harvesting. For medicinal aims use of the seeds yielded over the last 2 years period is advised. The peel is detached without damage of inner gray-green seed film containing the majority of anthelmintic compounds.

By properties of the fodder pumpkin's advantages are regarded to be more valuable, if compared with other vegetables including the mangel. Pumpkin is recorded to possess 4 times more proteins as to be by 18-25% rich in respect of feed units. In addition, pumpkin is a strong milk remedy rising the milk yield and its fat content. In 2011, pumpkin was harvested from 19,140 ha in the USA. The crop was valued at the level of about \$130 million (USDA, 2012). In 2010 the squash harvest including pumpkin was valued at nearly \$22 million in Georgia, though pumpkins represented only 10% of the total yield (Wolfe and Luke-Morgan 2011:112).

Table 1 – *Cucurbita spp.* nutritive value per 100 g.

(Source: USDA National Nutrient data base; www.nutrition-and-you.com/pumpkin)

Principle	Nutrient Value	Percentage of RDA
Energy	26 Kcal	1%
Carbohydrates	6.50 g	5%
Protein	1.0 g	2%
Total Fat	0.1 g	0.5%
Cholesterol	0 mg	0%
Dietary Fiber	0.5 g	2%
Vitamins		
Folates	16 µg	4%
Niacin	0.600 mg	4%
Pantothenic acid	0.298 mg	6%
Pyridoxine	0.061 mg	5%
Riboflavin	0.110 mg	8.5%
Thiamin	0.050 mg	4%
Vitamin A	7384 IU	246%
Vitamin C	9.0 mg	15%
Vitamin E	1.06 mg	7%
Vitamin K	1.1 mcg	1%
Electrolytes		
Sodium	1 mg	0.5%
Potassium	340 mg	7%
Minerals		
Calcium	21 mg	2%
Copper	0.127 mg	14%
Iron	0.80 mg	10%
Magnesium	12 mg	3%
Manganese	0.125 mg	0.5%
Phosphorus	44mg	5%
Selenium	0.3 mcg	<0.5%
Zinc	0.32 mg	3%
Phyto-nutrients		
Carotene-α	515 mcg	-
Carotene-β	3100 mcg	-
Crypto-xanthin-β	2145 mcg	-
Lutein-zeaxanthin	1500 mcg	-

Since that time annual comparison of the farm gate value in USD has shown that over that period (2011-2016) this value for the squash has grown by 24.5% (2011 - \$24,600,189; 2012 - \$16,706,584; 2013 - \$24,773,024; 2014 - \$27,918,277; 2015 - \$30,668,879; 2016 - \$32,144,356). Similar farm gate value for the zucchini has also increased by 24.3%. Meanwhile, farm gate value for the wheat during the same period has dropped by 68.8% (2011 - \$83,175,081; 2012 - \$104,369,607; 2013 - \$154,589,039; 2014 - \$86,714,104; 2015 - \$45,166,519; 2016 - \$26,013,694) (Wolfe and Stubbs 2017:91). Finally, ornamental horticulture rised in value by \$54,406,073 (+6.9%) as compared to the year 2015.

Biological features

Upper part as root system of pumpkin is more developed than that one of melon or water melon. Under unfavourable conditions and dry seed planting the seedlings appear in 5-8 days in form of the cotyledon leaves which are not typical of the cultivar. Type of the variety is determined by the 10th or 15th leaf. At this time the area of the leaf blade per plant may reach already 30-32 m². Lateral vines are formed in the sinuses of the 5th-7th leaves, and etc. There may be ramification (branching) of the first, second, or third order. The length of the major vine may achieve 204 m, whereas side vines may grow to 8-10 m. Total length of all the vines may encompass to 50 m.

The strength of growth and structure of roots are determined by the type of soil, its fertility, treatment, thermal conditions and moisturing, the state of subsoil horizon, level of underground water, time of sowing. Light black earth, medium loamy soils provide more extensive root development with high ramification of pumpkin plants. The taproot deepens by 1.5-2.0 m, whereas lateral roots of the first order for 2.5 m, and those of the third order – up to 1.5 m. under sufficient moisture availability pumpkin's root network develops in upper soil horizon (across 10-15 cm) by the whole width of the aisles. This requires cautious soil treatment of the aisles at the depth of 4-5 cv under standard humidity or 10 cv in case of lack of moisture. Sufficient water supply may result in additional roots formation in the internodes.

All *Cucurbitaceae* spp. are diploids with 20 pairs of chromosomes (Whitaker and Davis 1962:115). Pumpkins are a warm season annual, reaching maturity at around the fifth month. Most cultivars produce fruit on sprawling vines but bush-type hybrids are also available (Loy 2012:31). Tendrils on vines make trellising possible, but large-scale

vertical production is not feasible since the large fruit require a reliable support. Broad leaves are attached to thick stems and, in most cultivars, are covered by trichomes that may occasionally cause dermatitis in case of contacting (Whitaker and Davis 1962:78).

Pumpkin is referred to monoecious plants with separated male (staminate) and female (pistillate) flowers. Pumpkins begin to proceed to anthesis in approximately 2 months after seed germination (Loy 2012:32). Adult plants produce male flowers many days prior to female flowers. As flowering continues in pumpkins for several weeks a technician or a farmer will be able to catch both a female and male flower on the same morning. Flowering and anthesis is dependent on temperature (Wien 1997:354). Then heat is used in greenhouses to increase flower development in winter. A flower is viable for a short period, just a day, remaining turgid until midday (Whitaker and Robinson 1986:219). To trigger pollination, the female flower should be bagged the evening before. Successful pollination is most likely to occur using turgid flowers in early morning hours, although if male flowers are insufficient, day-old pollen may be applied to reach appropriate fruit set. The large monoecious flowers make hand pollination suitable. So a technician may detach the desired male flower from the vine, remove the petals and thoroughly rub the large, loose pollen grains onto the entire stigma surface of the desired female flower.

Pumpkin reproduces sexually via cross-pollination (King et al. 2012:83). After 8 weeks of growth, pumpkins produce bright yellow-orange monoecious flowers that open to approximately 10 cm from an 8 cm corolla tube. The male flowers produce pollen with large granules to be transferred by the honey bee (*Apis mellifera*), bumble bee (*Bombus spp.*) and, most commonly, squash bee (*Peponapis pruinosa*) to female flowers upon pollination (Shuler et al. 2005:792). After fertilization, fruit ripens in 35-55 days after pollination depending on the cultivar (Kelley et al. 2001:112). Summer squash is harvested as immature fruit so that the soft mesocarp and seeds can be eaten entirely; winter squashes and pumpkins are harvested as mature fruit, which has a hard rind, firm mesocarp and seeds encased in a lignified seed coat attached to the fibrous endocarp adjacent to a hollow central cavity (Loy 2012:31).

Breeding prospects

Being able to cross pollination in natural conditions, pumpkins can be bred as recommended

by self-pollinating crop guidelines. This is explained by low range of inbreeding depression for most of the traits (Scott 1935:480) and flowers ability to easy pollination. In reality the breeder can maintain self-cucurbits for many generations without threat of obtaining sudden negative traits. Moreover, self-incompatibility is not recorded for the genus (Whitaker and Robinson, 1986:221). Wehner 1999:392) has estimated yield heterosis for cucurbits regarding F1 hybrids to be 40-44%. Pedigree selection is the traditional and most widespread breeding strategy since the pumpkin flower is easily hand-pollinated and generation of wide interspecific hybrids of domesticated and wild species may be successful (Loy 2012:31). Zhang et al. (Zhang et al. 2012:454) established nine interspecific bridge lines for the three domesticated cucurbit species, overcoming F1 male sterility using a number of breeding tactics. These perspective lines may be implied to various cucurbit breeding programs.

While transferring a single trait into a cultivar, i.g. specific disease resistance or plant ramification habit, backcrossing of non-elite and wild germplasm donors may turn out to be an effective strategy (Loy 2012:32). Disease resistance was also induced into commercial lines by implication of transgenic biotechnology. Transgenic lines showed higher productivity than controls even under exposition to a virus different from that one to which these lines had been insensitive (Fuchs et al. 1998:1353).

Breeders interested in quantitative traits such as fruit size, percent of dry matter or yield are encountering certain troubles as plants should be sown in huge field spaces for a nearly half-year vegetation period. So calculations and analyses should be fulfilled in different conditions as over several years. That is why conventional evaluations of available germplasm resources are rarely undertaken and reliable, replicated data on pumpkin biology and yield are deficient in the literature (Loy 2012:32).

Historically dominating open-pollinated cultivars are now being replaced by F1 hybrids (Wehner 1999:389). Hybridization of inbred lines has been a successful means for generating cultivars best suited for the edible seed and seed oil markets, where seed uniformity and seed number is selected over mesocarp characteristics (Lelley et al. 2010:479). Hand pollination makes F1 hybridization less economical for pumpkins, but modern trends in hybridization techniques may change current situation. At present, chemical induction of female (gynoecious) flowers via using ethephon is applied to *C. pepo* (Robinson et al. 1970:182) though still less

effective for *C. maxima* and *C. moschata* (Wehner 1999:393). Male and bisex sterile genes have been identified in *C. pepo* and *C. maxima* (Carle, 1997:46; Scott and River 1946:376). However, counting present inability to phenotyping this trait during vegetation period in the field, these genes are not implied in ongoing *C. pepo* breeding programs (King et al. 2012:84). Another tool is specific method of male flowers removal from female parent plants to enable natural, bee-mediated hybridization (Curtis 1939:827) which is still too labour-consuming from point of large-scale harvesting.

Modern research on genetic diversity of pumpkin and its relations

Significance of *Cucurbita pepo* crop has been emphasized internationally owing to its high nutritional, economic and pharmaceutical value (cited from Ntuli et al. 2015:197). The *Cucurbitaceae* family is the second most large horticultural family in terms of economic importance after *Solanaceae* (Andolfo et al. 2017:3). It includes several important crops, such as melon (*Cucumis melo*), watermelon (*Citrullus lanatus*), cucumber (*Cucumis sativus*) and a number of *Cucurbita* spp. with edible fruits (Jeffrey 1980:239). The genus *Cucurbita* ($2x = 2n = 40$), originated in the Americas, is composed of three economically important crop species such as *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, and *Cucurbita maxima*, cultivated throughout sub-tropical, tropical, and temperate regions (Wang et al. 2011:218).

In South Africa leaves, flowers, fruits, seeds and shoot apices of *C. pepo* used for preparing leafy vegetable dishes. It has a wide range of genetic accessions variable both in vegetative and reproductive characteristics. Small scale farmers get used to preserve available landraces by means of in situ conservation, whereas in South Africa and other countries the main tactics of preserving variability is intercropping of different *Cucurbita* species. Thereby the gene flow among the cucurbits is on via stochastic bee pollination. In case of gene exchange among distant plant populations new cultivars and their sub-cultivars may easily generate causing the seed exchange between farmers. Though pumpkins are naturally cross-pollinating crops, self-pollination is commonly practiced with breeding purposes. This strengthens plant homozygosity, which is not maintained by cross-pollinated species under normal conditions. This theory is confirmed by implication of molecular techniques. RAPD fingerprinting assists in determination of identical species and close genera, species-to-species gene flows, likelihood

and combined genome examples, specific gene markers and mutations. RAPD markers have been used for establishing genetic diversity in cucurbits (Cuevas-Marrero and Wessel-Beaver 2008:349; Dey et al. 2006:25; Hadia et al. 2008:517; Khan et al. 2009:62; Morimoto et al. 2006:969; Tsivelikas et al. 2009:276). These markers are preferable in case of leastly known genomes and tiny DNA amounts being simple in application and producing a range of marker versions. In addition RAPD can monitor the whole genome sequence (Navajas and Fenton 2000:763; Gajera et al. 2010:496; Khan et al. 2009:64). Since recently the RAPD technique is successfully implied in South African studies (Ntuli et al. 2015:195).

Simple sequence repeat (SSR) or microsatellite markers are generated based on different eukaryotic genomes. This approach can be very informative, repetitive, used under complex conditions of codominance, multiple alleles and high polymorphism. SSR technique allow to investigate slight variations across related cultivars (Formisano et al., 2012). The only limitation of this approach is availability of specific microsatellite markers (Garcia et al., 2004). Fortunately, such markers are used for Cucurbits (Formisano et al. 2012: 1179; Gong et al. 2008:42).

In Portugal, the *Cucurbita* farming is linked to conventional local cultivars and used mainly for self-consumption (human food or feed) via the sale on local markets. To evaluate the diversity of 54 *C. pepo*, 32 *C. maxima* and 21 *C. moschata* populations collected in Central and Northern Portugal, 20 morphological traits from the Minimum Descriptors for *Cucurbita* spp. and six microsatellites were used (Martins et al. 2015:68). The traits that demonstrated the maximum mean values in *C. pepo* (fruit length, skin thickness and seed weight), *C. maxima* (fruit width and 100 seed weight) in *C. moschata* (fruit weight and flesh thickness) have been determined across all three populations. The ANOVA revealed significant differences ($P < 0.05$) for all traits under this study, with exception of the data on skin thickness. The Principal Component Analysis (PCA) showed that the three most informative major components explained 52.5 % of the total variation and a clear separation of the three species. The molecular analysis with SSR markers revealed a polymorphism of 100%. The observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e) reached averagely 0.316 and 0.447, respectively. The Polymorphism Information Content (PIC) made up nearly 0.688. The hierarchical analysis revealed a clear separation of the three *Cucurbita*

species. The Principal Coordinates Analysis (PCoA, or classical multidimensional scaling) showed that the three most informative principal coordinates (PCs) explained 66.3 % of the total variation and clearly separated the three species under the scope. The high genetic diversity has been attributed to available Portuguese collection of *Cucurbita* spp. thus providing sufficient information on the diversity conservation and following breeding programs.

Another recent progress has been achieved by phytopathological investigations on cucurbits (Thomas et al. 2017: 6239). In this study the focus was made on *Pseudoperonospora cubensis*, the causal agent of cucurbit downy mildew (CDM) which is referred to be host-specific. This pathogen's virulence was classified into several pathotypes based on their compatibility with differential sets composed of specific cucurbit host types. Total genomic DNA was extracted from nine isolates of *P. cubensis* obtained in 2008-2013 from a number of cucurbit hosts (*Cucumis sativus*, *C. melo* var. *reticulatus*, *Cucurbita maxima*, *C. moschata*, *C. pepo*, and *Citrullus lanatus*) in the USA to be then subjected to whole-genome sequencing. Comparative analysis of these nine genomes revealed two distinct evolutionary lineages (lineages I and II) of *P. cubensis*. Multiple fixed polymorphisms made distinguishable lineage I composed of the isolates from *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, and *Citrullus lanatus* from lineage II including the isolates from *Cucumis* spp. and *Cucurbita maxima*.

Phenotypic analysis has shown that lineage II isolates were of the A1 mating type and belonged to pathotypes 1 and 3 that were not known to be present in the USA prior to the resurgence of CDM in 2004. Since the lineage II is associated with new pathotypes and lacks genetic diversity in its isolates, namely this lineage of *P. cubensis* may be provoked by the 2004 CDM resurgence in the USA. Previous studies have identified two wild cucurbit relatives, *Bryonia dioica* and *Sicyos angulatus*, as hosts compatible with both *P. humuli* and *P. cubensis* (Runge and Thines 2012:59). Susceptible varieties of hop in the United States can also be infected by *P. cubensis* (Mitchell et al. 2011:813). There could be more host types that are compatible with the two *Pseudoperonospora* species. Co-infection of different hosts may promote genetic exchange between the two species and occasional incorporation of *Pseudoperonospora* genome fragments into cucurbit genomes. Based on ongoing study, it is proposed that pumpkins hybridization may lead to the process of host specialization to *P. cubensis*. Such investigations may contribute both

to identification of wild pumpkin relations and understanding true pathways of genetic exchange between crop species apart from comprehending co-infection risks and plots.

Cucurbita pepo includes a wide assortment of cultivars and species, known for their diverse fruit shape, color and flesh quality appreciated for essential culinary possibilities. Botanical classification based on allozyme variation recognized three subspecies in this species including: *pepo*, *ovifera* (syn. *texana*), and *fraterna*. Paris H. S. (Paris 1986:135) classified edible-fruited *C. pepo* into eight cultivar-groups: Acorn, Crookneck, Scallop, and Straightneck that belong to subsp. *ovifera* and Pumpkin, Zucchini, Cocozelle, and Vegetable Marrow that belong to subsp. *pepo* (Paris 2010:129).

The genome size of *Cucurbita* spp. is nearly 500Mb (Arumuganathan and Earle 1991:212). Recently, in addition to a draft *C. pepo* (subsp. *pepo* cultivar-group Zucchini) genome of 265 Mb was posted on CucurbiGene database completed by few *C. pepo* transcriptomes (Wyatt et al. 2015:77; Vitiello et al. 2016:318; Xanthopoulou et al. 2016:200, Xanthopoulou et al. 2017:55; Montero-Pau et al. 2017:7).

By using a high-quality zucchini (*C. pepo*) genome, Montero-Pau et al. (Montero-Pau et al. 2017:9) have shown its size of 263 Mb, a scaffold N50 of 1.8 Mb completed by 34 240 gene models. This genome is made up of 93% of the set of conserved BUSCO core genes, and it includes 20 pseudomolecules (81.4% of the assembly). The genome is associated with a genetic map of 7718 SNPs. Though the genome size is relatively small, it shows that the *C. pepo* genome is stemmed from a whole-genome duplication due to the following data: i, specific phylogenetic topology of the gene families; ii, distinctive karyotype pattern and distribution of 4DTv distances in course of calculating characteristic sequence alignments; iii, assembly of 40 transcriptomes for 12 species of the genus and comparative study by using other known genomes of *Cucurbitaceae*. The duplication was detected in all the *Cucurbita* species so far investigated, including *C. maxima* and *C. moschata*. However, this duplication has not been uncovered in more distant cucurbits, i.g. the *Cucumis* and *Citrullus* genera. So such duplication, by authors' opinion, could arise 26-34 Mya in the formative ancestral species which had served as the foundation of the genus *Cucurbita*.

Despite of that related proteome remained so far obscure. High-throughput sequencing of transcriptomes has paved new way to structural

and functional information with unconceivable acceleration (Andolfo et al. 2017:3). RNA sequencing (RNA-seq) leads to extensive transcriptome generation followed by dynamic gene expression to be resulted in understanding genes function. Proteome data are further options for general genome survey and related comparative investigations. The authors sequenced and designed the first transcriptome of zucchini cv. "True French" which is resistant to pathogens and capable of producing high-grade proteome records. A total of nearly 34, 000 proteins were predicted, functionally annotated by their sequences and compared with other plant proteomes (Arabidopsis, cucumber, melon, and watermelon). Besides disease resistance gene family (R-genes) was exhaustively described as unraveled at species-specific level in *C. pepo*. The database of NCBI is comprised of preliminary sequences of three biological replicates of *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* cultivar-group Zucchini, variety "True French", in FASTQ format. These protein sequences of *C. pepo* can be accessed at NCBI with SAMN07426850 BioSample accession number (www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/study/?acc=SRP114337). The GTF-formatted *C. pepo* transcriptome annotation and related protein sequences in FASTA format may be found at FIGSHARE (<https://figshare.com/s/8a083f60df238acdbc19>). Users can download and use the data freely for research goals with acknowledgment to the authors (Andolfo et al. 2017:5) and quoting this paper as reference to the data.

Despite crop breeding and generation of valuable traits through gene engineering (GE) is focused on specific properties, it is possible that some additional valuable features may be affected by genetic modification because of the complexity of plant metabolism and schemes of development. Recently meta-analysis profiling the phenotypic consequences of plant breeding and GE, and the comparison of modified cultivars with wild relatives in five crops of global economic and cultural importance (rice, maize, canola, sunflower, and pumpkin) has been carried out (Hernández-Terán et al 2017:7). These five species have been surveyed on phenotypic traits associated with their fitness to all the species under investigation. It has made possible to assess different processes of modification which had changed the phenotype in a definite mode through statistically reliable differences in separate phenotypic traits or specific groups of the organisms depending on their genetic origin (wild, domesticated with assistance of GE (domGE), and domesticated without involvement of GE manipulations (domNGE)). The authors have concluded that

genetic modification (either by selective breeding or GE) can be manifested phenotypically: i, by means of comparing domGE and domNGE with wild species; and ii, detecting the emergence and the scale of phenotypic differences between domGE and domNGE going beyond the target trait(s). This is reasonable argument as phenotypic differences of domGE and domNGE may appear to be neglectable with reference of differences between the wild and domesticated relatives (either domGE or domNGE).

The genus *Cucurbita* (pumpkins, squashes, and yellow-flowered gourds) is presented by 12–14 species scattered over the New World from the U.S. to Argentina. Earlier their phylogenetic inter-relationships were investigated by comparing six wild and six domesticated taxa of *Cucurbita* (Sanjur et al. 2002:537). By using an intron region from the mitochondrial *nad1* gene as a marker inter- and intraspecific taxonomic relationships in Angiosperms have been cleared up to yield novel insights into the route of domestication for *the Cucurbita*. Those data pointed out six or more independent domestication steps emanated from distinct wild ancestors. It was proposed that *Cucurbita argyrosperma* had been domesticated from a wild Mexican gourd, *Cucurbita sororia*, apparently in the Southwest Mexico signifying the same region that had brought maize. Though the wild ancestor of *Cucurbita moschata* remains unclear, the mitome data (mtDNA data) combined with other related information showed that the site of origin could be anticipatedly located in lowland northern South

America. In addition, it was supposed that *Cucurbita andreana*, coming from humid lowland regions of Bolivia, as the wild progenitor of *Cucurbita maxima*, apart from warmer temperate zones in South America, where *C. andreana* was initially attributed to, should possibly be considered as putative areas of origin for *C. maxima*. These as other molecular data discerned two separate domestication zones in the *Cucurbita pepo* complex. The putative domestication zone for one of the domesticated subspecies, *C. pepo* subsp. *ovifera*, was ascribed to eastern North America eventually extending to northeastern Mexico. The wild ancestor of the other domesticated subspecies, *C. pepo* subsp. *pepo*, remains unknown. However, it revealed close kinship to *C. pepo* subsp. *fraterna* which original site may locate in Southern Mexico.

Ongoing Progress in *C. pepo* phytoremediation

Phytoremediation, or the application of higher plants for soil and groundwater recovery, is a

promising strategy for reliable treatment of the lands polluted by toxic compounds. The high capability of certain Cucurbitaceae spp. to extract pesticides, namely polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) from soil was first mentioned by Hulster et al. (Hulster et al. 1994:1112) which described *C. pepo* L. fruits accumulating double concentrations of PCDD/PCDF comparing to other plants under that investigation. Present data demonstrate that *C. pepo* cultivated on contaminated soil has reduced overall PCDD/PCDF content approximately by 32–37 %. If addition of sludge has followed by root growth inhibition of *L. sativum*, *S. alba* and *S. saccharatum*, cv. ‘Atena Polka’ (zucchini) cultivation has caused 32 % promotion of root length. Further treatment with urban sediment resulted in an initial 1 %–36 % promotion of root growth, while ‘Atena Polka’ cultivation has diminished this positive effect by 26 % inhibition. So these results have indicated positive influence of *Cucurbitaceae* on the phytotoxicity abatement and decline (Urbaniak et al. 2017:403). Systemic analysis of different members of the *Cucurbitaceae* family, including cucumber (*Cucumis sativus*), watermelon (*Citrullus lanatus*), melon (*Cucumis melo*), pumpkin (*Cucurbita pepo*), squash (*C. pepo*), and zucchini (*C. pepo*) selectively impured with highly toxic hydrophobic pollutants (organochlorine insecticides and dioxins) has been initiated quite recently by Inui et al. Xylem sap of *C. pepo* ssp. *Pepo* which is accumulating hydrophobic compounds was shown to transfer pyrene (the hydrophobic compound) into the soluble state by using proteins. SDS-PAGE of xylem sap of two *C. pepo* subspecies has determined the quantity of 17-kD proteins from *C. pepo* ssp. *Pepo*. It appeared to be greater than that from *C. pepo* ssp. *ovifera*. So the authors have proposed that these low molecular weight proteins may be responsible for the transfer of hydrophobic pyrene into the aqueous phase. 17 kD electrophoretic band was shown to conclude major latex-like proteins (MLPs). Relevant MLP-PG1, MLP-GR1, and MLP-GR3 genes have been cloned from the *C. pepo* cultivars ‘Patty Green’ and ‘Gold Rush’. Expression of the MLP-GR3 gene in *C. pepo* cultivars was found to positively correlate with 17-kD band thickness and bioconcentration feature to dioxin and its derivative compounds. Recombinant MLP-GR3 has been revealed to be able to bind polychlorinated biphenyls attached to magnetic beads, whereas recombinant MLP-PG1 and MLP-GR1 eluted without binding. These data demonstrate the high expression of MLP-GR3 in pumpkin (*C. pepo* ssp. *pepo* plants) as the efficiency

of MLPGR3 in the xylem sap for the translocation of hydrophobic impurities. Such data may be useful for reduced contamination of fruits across the *Cucurbitaceae* family and the phytoremediation in respect of hydrophobic contaminants. The draft genome of *Enterobacter aerogenes*, a Gram-negative bacterium of the *Enterobacteriaceae* isolated from *Cucurbita pepo* root tissue has been recently reported (Eevers, 2015a:490). This bacterium manifests 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (DDE)-degrading potential supplemented by substantial plant growth promotion. Survey on its 4.5-Mb preliminary genome sequence would enable our comprehension of DDE degradation metabolic pathways as well as application of phytoremediation to DDE-polluted soils. At the same time another genome of Gram-negative bacterium *Methylobacterium radiotolerans* was also isolated from *Cucurbita pepo* roots. This bacterium possessed also DDE-degrading potential and plant growth-promoting features. Analysis of 6.8-Mb genome of that species should also upgrade our current knowledge on DDE-transformation metabolic pathways and assist in improving phytoremediation tools to recover DDE-impured environment (Eevers, 2015b:448). This series of of experiments are being followed by publication of the draft genome for *Sphingomonas taxi* isolated from *Cucurbita pepo* root tissue. This Gram-negative microorganism also revealed DDE-degrading trait and plant growth-accelerating property. More precise investigation of composition of its 3.9-Mb preliminary genome will contribute to the data on DDE-utilization crosstalks and provide subsequent phytoremediation techniques for DDE-polluted lands (Eevers, 2015c:317). All three genomes represent a single circular chromosome with 53.8-71.2% GC content, 3634- 6373 coding genes, arranged in 309-378 pathways, 260-1474 pseudogenes, 3-40 rRNA genes, 40-50 tRNA genes, and 1-7 noncoding RNA(ncRNA).

Another modern approach is generation of transgenic with programmed set of associated bacteria. This trend is supposed to offer further generation of genetically modified plants to be implied for environmental-friendly soil and water treatment in case of their contamination with organic substances (i.g., polychlorinated biphenyls, PCBs, Van Aken et al. 2010:771). This attitude may foster phytoremediation of PCB-polluted environment via the design of transgenic plants with certain associated microorganisms. Plants can improve the situation with environmental toxic substances imposing a number of mechanisms. In addition

to direct “aspiration” from soil (*phytoextraction*), plants may exploit enzymatic modification of PCBs (*phytotransformation*). Plants are also able to synthesize and transfer a range of secondary substances or activate microorganisms inhabiting the root zone to neutralize PCBs (*rhizoremediation*). All these pathways of phytoremediation may occur too sluggish, as PCBs are hydrophobic and chemically durable. So the uptake and bioconversion by plants and associated microflora is slow and incomplete with further possibility of PCBs toxic reverse leakage to surrounding environment. It is necessary to emphasize that natural bacterial associations with plants may appear to be unable to carry out PCB detoxication. To complete their enzymatic “store” sets of bacterial genes effectively converting PCBs, and first of all, biphenyl dioxygenases, have been inserted into higher plants genome according to convenient gene engineering approaches leading to transgenic crops. Bacteria have been additionally genetically modified to reach better biodegradation outputs through effective plant-bacterial interaction before and during this process. Generation of transgenic associated with bacteria would pave way to broader and efficient implication of phytoremediation for the elimination of hazardous organic substances.

Recently Antoine et al. (Antoine et al.2017: 185) thirteen Jamaican-grown food crops (pumpkin (*Cucurbita pepo*), ackee (*Blighia sapida*), banana (*Musa acuminata*), cabbage (*Brassica oleracea*), carrot (*Daucus carota*), cassava (*Manihot esculenta*), coco (*Xanthosoma sagittifolium*), dasheen (*Colocasia esculenta*), Irish potato (*Solanum tuberosum*), sweet pepper (*Capsicum annuum*), sweet potato (*Ipomoea batatas*), tomato (*Solanum lycopersicum*) and turnip (*Brassica rapa*) were examined for aluminium, arsenic, cadmium and lead by atomic absorption spectrophotometry (AAS) and instrumental neutron activation analysis (INAA). By using the fresh weight mean concentrations in these food crops (4.25–93.12 mg/kg for aluminium, 0.001–0.104 mg/kg for arsenic, 0.015–0.420 mg/kg for cadmium, 0.003–0.100 mg/kg for lead) the estimated daily intake (EDI), target hazard quotient (THQ), hazard index (HI) and target cancer risk (TCR) for arsenic, associated with dietary inclusion of these potentially toxic elements was defined. Each food type had a THQ and HI < 1 indicating no essential carcinogenic risk from exposure to a single or multiple potentially toxic elements from the same food. The TCR for arsenic in these foods turned out to be lower than 1×10^{-4} , the upper threshold of acceptable cancer risk. It has been concluded that

there would be no potential threat associated with the consumption of pumpkin and other Jamaican-grown food crops.

Current research on trace metals highlighted in recent Darwin review (Andresen et al. 2018:926) indicated their peculiarity as specific micronutrients combined with puissant toxicity. Due to environmental and anthropogenic factors, contrastly different trace metals amounts are detected in various areas, ranging from negligible to toxic contents. So modern phytoremediation makes its emphasis on plant response to trace metals at steps of uptake, transfer, capture from the environment (sequestration), speciation, physiological use, deficiency, toxicity, and their disposal (detoxification). Each of these processes of metal usage, transfer, or toxicity may be studied among pumpkin and its relations as model plants by broadening gene expression assays, biochemical and iophysical tools applied to metalloproteins. Two other reviews of the same issue of the Journal of Experimental Botany are focused on molecular effectors of fertilization-free (parthenocarpic) fruit development (Joldersma and Zhongchi Liu, 2018) and dehydration survival maintained by delayed mortality or impaired by plant metabolic resilience (Blum and Tuberosa, 2018:207). Both aspects may be successfully ascertained by conducting experiments on *the Cucurbitaceae* with following practical outcome in the cropping and production.

Present medicine as advanced application platform for Cucurbitaceae spp.

Medicinal significance of pumpkin has been stressed in the introduction. *Cucurbita pepo*, *Amaranthus dubius*, *Vigna unguiculata* have been implied traditionally against obesity in Kenya. Recent studies have been concentrated on determining the antiobesity activity of leaf methanolic extracts from these plants in progesterone-induced mice with overweight (Nderitu et al. 2017:8). The activity of leaf extracts was identified by bioscreening in progesterone-induced obese mice at 200mg/kg and 400mg/kg. Body mass index was calculated once a week for 30 days. Blood samples were then obtained to be subject to lipid profiling. Antiobesity plant extract activities were compared to the controls. Leaf extracts of *C. pepo* and other plants, at above-mentioned dose concentrations revealed significant effects on body mass index. At concentration of 200 mg/kg of *C. pepo* extract treatment weight gain has been observed at the level of 2.7%, whereas at 400 mg/kg weight loss has been determined to be around

0.3%. No significant difference of the three plant extracts in lipid profiling has been registered. Plant extracts contained various phytochemicals such as saponins, flavonoids, alkaloids, and steroids. Thus aforementioned plants, and pumpkin among them are recommended for the suppression of obesity and its effective management.

Carotenoids possessing diverse biological effects, are able to function as antioxidants protecting eye tissues against free radicals. The exclusive source of carotenoids for humans is food, and the carotenoid abundance and availability in plasma is critical for the maintenance of tissue viability in the long run. Pumpkin, zucchini squash, and yellow squash together with some other plant and egg sources are considered as major founts of carotenoids. In the middle of 1990s it was suggested that eating these vegetables, which are rich in carotenoids, may decrease the risk of age-related macular degeneration. The goal of this study (Sommerburg et al. 1998:908) was to determine those fruits and vegetables which contain abundant lutein and/or zeaxanthin to serve as putative dietary supplements for these carotenoids. Homogenates of 30 fruits and vegetables, two fruit juices, and egg yolk, completed by homogenized pumpkin, zucchini squash, and yellow squash fleshes, were used for extracting the carotenoids with hexane. Different factions of carotenoids and their isomers were measured by high performance liquid chromatography with a single column eluted in an isocratic mode and supplied with a diode array detector. Though the egg yolk and maize (corn) revealed the highest mole percentage of lutein and zeaxanthin (more than 85% of the total carotenoids), substantial quantities of lutein and zeaxanthin (30–50%) were also present in different kinds of squash, zucchini (vegetable marrow), kiwi fruit, grapes, spinach, and orange juice. Maize was referred to the vegetables with the largest amount of lutein (60% of total), whereas orange pepper was the vegetable with the highest quantity of zeaxanthin (37% of total). The results show that there are squashes as other fruits and vegetables of various colours with a relatively high content of carotenoids. The conclusion has been made that most of the dark green leafy vegetables, previously recommended for a higher intake of lutein and zeaxanthin, possessed 15–47% of lutein, but a very insignificant amount (0–3%) of zeaxanthin. So this study advises squashes as other fruits and vegetables of various colours to enrich dietary intake of lutein and zeaxanthin. Taking into consideration a fivefold higher concentration of lutein and zeaxanthine in the macula compared with the peripheral retina, such strat-

egy of food consumption or dietary supplementation may lead to prevention of macular degeneration in our conditions and worldwide.

Growing demand, production and consumption of natural drugs and their pharmaceutical applications has promoted a worldwide research on medicinal plants serving as effective remedies. One of prospective goals still underestimated in Kazakhstan (the authors have submitted two projects encouraged by foreign experts but finally declined for state grant financing) is the seed oil of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). This oil is ascribed to possess outstanding pharmacological features, especially with reference of wound healing treatments (Bardaa et al. 2016:9). The content and composition of certain bioactive ingredients of the pumpkin seed oil obtained by cold pressing were established to study their wound recovering properties. Uniform injuries were induced on the backs of eighteen rats. This cohort was divided into three groups. The wounds were registered by photography, and treated with saline solution (0.9% NaCl, control group), 0.13 mg/mm² of a reference commercial drug (“Cicaflora cream”), and 0.52 µl/mm² of pumpkin’s oil every 48 hours until the first group has been completely recovered and biopsies would be histologically assessed. The content and composition of tocopherols, fatty acids, and phytosterols were shown to reveal perfect quality of pumpkin oil concluding a high content of polyunsaturated fatty acids (linoleic acid, 50.88 ± 0.11 g/100 g of total fatty acids), tocopherols (280 ppm) and sterols (2086.5 ± 19.1 ppm). Increased amount of these bioactive ingredients has caused effective wound healing confirmed in course of this in vivo experiment. Morphometric evaluation and histological analysis revealed healed biopsies posteriorly to the pumpkin oil treatment of experimental group of rats, and a complete re-epithelialization with re-organized collagen fibers without inflammatory cells, whereas control group remained obviously injured. So this in vivo study emphasized the significance of the seed pumpkin oil as a potential drug to healing human and animal injuries. Moreover, certain efforts should be taken towards introducing tocopherols, sterols and polyunsaturated fatty acids of the pumpkin oil as excellent drugs and ingredients to be used in cosmetics. In general, seed pumpkin oil is recommended for the nutritional and medicinal purposes. On the other hand, a number of investigators have reported growing susceptibility to nematodes in both humans and livestock. Grzybek et al. (Grzybek et al. 2016:15) conducted a special study to assess the in vitro and in vivo anthelmintic effect of *Curcubita pepo* L. For this aim hot water extract (HWE), cold

water extract (CWE) and ethanol extract (ETE) have been examined on two model species of nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Heligmosoides bakeri*. Raman, IR and LC-MS spectroscopy analyses were carried out on plant material under investigation to collect qualitative and quantitative data on the composition of the obtained HWE, CWE and ETE extracts. The in vitro activity has demonstrated the impacts of *C. pepo* extracts on *C. elegans* and various developmental stages of *H. bakeri*. The following in vivo experiments on mice infected with *H. bakeri* confirmed inhibitory properties of the ETE as the most active pumpkin extract selected by the in vitro study. All of the extracts were detected to contain cucurbitine, aminoacids, fatty acids, and berberine and palmatine. The latter two substances were revealed for the first time. All *C. pepo* seed extracts showed a nematocidal property in vitro, specifically affecting viability of the larvae, L1 and L2, of *H. bakeri*. The ETE was the strongest and demonstrated a positive effect on *H. bakeri* oviposition (eggs hatching) and marked inhibitory effect on the worm motility comparing to a PBS-buffered control. No significant effects of pumpkin seed extracts on *C. elegans* integrity or maneuverability were indicated. The ETE in the in vivo experiments manifested anthelmintic properties while both *H. bakeri* fecal egg counting and adult worm burdens calculating. The most substantial egg number reduction was observed at the concentration of 8 g/kg dose (IC₅₀ against *H. bakeri* = 2.43; 95% CI = 2.01–2.94). Dropping of faecal egg counts (FEC) was accompanied by a significantly lowered worm burdens of the treated mice compared to the control cohort. Thus the alcohol and the water pumpkin seed extracts may be used to administer gastrointestinal (G.I.) nematode infections. This cheap alternative to the currently available chemotherapeutic should be regarded as a powerful curative candidate in the short run. The researchers predict new extensive methods for extract stabilization, preservation, and formulation.

Noteworthy, long tradition of pumpkin seed oil production belongs to Austria, Croatia and some other countries. Recent chemical study allowed to clarify antioxidant behaviour of the pumpkin seed oil or mixtures owing to implication of six mathematical models (three monophasic and three biphasic) implied (Broznić et al. 2016:205). The used oil samples differed in methods of extraction as geographic origin. Possible participation of tocopherol isomers (α-, γ- and δ-) and specific fatty acids (oleic and linoleic) in DPPH[•] disappearance (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical disappearance) as well as their contribution to the reaction rate were esti-

mated. These experiments have revealed that γ - and δ -tocopherols prevented from DPPH \cdot disappearance in the first step, whereas α -tocopherol in the second step of the reaction. In addition α -tocopherol has shown 30 times higher antioxidant activity, when compared with γ - and δ -tocopherols. So the two-phase double-exponential manner of DPPH \cdot disappearance in oil samples has been determined, due to the complex reactions encompassing various tocopherols and passing through alternative chemical pathways. Thus, the authors recommend the use of a first-order double-exponential model to determine biphasic DPPH \cdot disappearance which offer prompt and precise information on antioxidant potential in respect of the differences in oil's chemical composition. This model proposes that the oil tocopherol isomers possess different radical suppressing ability. These isomers then react with radicals at different rates, thereby assigning a two-step reaction. For a deeper comprehension of the mechanisms for the DPPH \cdot and oil antioxidants participation, it is high time to give detailed description of the pumpkin oil with regard to specific antioxidants, the reaction intermediate products and also those products which reveal different binding or other activities to the radicals. New mathematical models combining all the properties and special cases have been forecasted by this group of chemists.

Do *Cucurbitaceae* spp. may be involved in controlling the process of aging? Recent study reported by Martínez-Valdivieso et al. (Martínez-Valdivieso et al. 2017:17) points out that zucchini (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*) is a seasonal vegetable with high nutritional and medical values. A number of useful properties of this fruit were attributed to bioactive compounds. Zucchini fruits (cvs. "Yellow" and "Light Green") and four distinctive components (lutein, beta-carotene, zeaxanthin and dehydroascorbic acid) were chosen for tracing. Initially, the lutein, beta-carotene, zeaxanthin and dehydroascorbic acid concentrations were detected in fruits of these cultivars. To assess the safety and suitability of fruits, different assays were performed: (i) genotoxicity and anti-genotoxicity tests to indicate the safety and DNA-protective features to hydrogen peroxide; (ii) cytotoxicity; (iii) DNA cleavage (fragmentation) and Annexin V/PI (Propidium Iodide) assays to ascertain the pro-apoptotic effect. These experiments showed that: (i) all the substances were non-genotoxic; (ii) moreover, these substances revealed anti-genotoxicity except high lutein concentrations; (iii) "Yellow" zucchini epicarp and mesocarp were detected to possess the maximum cytotoxic index ($IC_{50} > 0.1$ mg/ml and 0.2 mg/ml, respectively);

and (iv) "Light Green" zucchini skin enzymes induced inter-nucleosomal DNA fragmentation, and beta-carotene served as the putative molecule evoking pro-apoptotic activity. So zucchini fruit could positively effect human health and nutrition, since its components were found to be safe, able to hinder substantially the H₂O₂-induced damage and demonstrate anti-proliferative and pro-apoptotic activities among tumor cells (namely HL60 human promyelocytic leukemia cells). Valuable information generated by this study should be taken into consideration while selecting potential resources for *Cucurbitae* breeding programmes and designing anti-aging programmes for humans, livestock and other animals of interest.

Current trends in pumpkin biochemical research

Though the fruit mesocarp and the seeds of pumpkins and winter squashes are used for consumption, the focus of breeding depends on available stock of cultivars. Cultivars aimed at fruit consumption are bred for fruit mesocarp quality traits including carotenoid and dry matter abundance, percentage of soluble substances solids. These important traits are less critical while evaluating oilseed pumpkins (Wyatt et al. 2016:7). To assess fruit development in two types of squash (acorn squash and oilseed pumpkin), the researchers sequenced the fruit transcriptome of two cultivars bred for different purposes: an acorn squash (cv. "Sweet REBA"), and an oilseed pumpkin (cv. "Lady Godiva"). Putative metabolic pathways were designed for starch, sucrose and carotenoid syntheses in winter squash and squash fruit homologs with the identification of related sets of structural genes along these pathways. Gene expression, including branch-point and rate-limiting genes, has shown high matching with the accumulation of metabolic products both in course of developmental stages and between the two cultivars. So developmental control of metabolite-converting genes is a crucial factor in cucurbits fruit and, possibly, oil quality.

Phenolic compounds were extracted from pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed and amaranth (*Amaranthus caudatus*) grain using 80% (v/v) methanol (Peiretti 2017:2179). Both extracts were characterized by total phenolic compounds (TPC) composition, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), ferric-reducing antioxidant power (FRAP) and anti-radical activity to specific radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, or DPPH). By HPLC-DAD technique concentrations of separate phenolic compounds was detected. Pumpkin seeds showed higher content of TPC in comparison to that from amaranth, although the TEAC values of both extracts were similar. Op-

positely, FRAP value was determined to be higher in the amaranth grain comparing to the pumpkin seed. Phenolic composition of the amaranth grain indicated strongest antiradical activity to DPPH radical. HPLC charts of both extracts demonstrated several peak fractions. The UV-DAD spectra revealed derivatives of vanillic acid in the amaranth grain. Simultaneously, the three main phenolic compound were shown to be present in pumpkin seed by UV-DAD spectra with maximums at 258, 266 and 278 nm.

Cucurbita pepo is used in folk medicine against gastroenteritis, hepatorenal and brain abnormalities. *Cucurbita pepo* fruit skin (peel) has been noticed to possess protective effect in rats against carbon tetrachloride-induced (CCl₄-induced) neurotoxicity (Zaib and Khan 2014:1969). In that study, 36 Sprague-Dawley female rats (190±15 g) were subdivided into 6 groups of 6 rats each. Group I was given 1 ml/kg bw (body weight) of corn oil intraperitoneally (i.p.); Group II- IV were treated with 20% CCl₄ dispersed in corn oil (1ml/kg bw i.p.). In addition Group III and IV animals were treated with CPME (the methanol extract of *C. pepo* fruit peel) at 200 and 400mg/kg bw respectively. Animals of Group V and VI were injected only with CPME at 200 and 400mg/kg bw respectively. All treatments were administered for 3 days a week for a fortnight. CCl₄ injection caused acute neurotoxic reaction traceable by significant decrease of antioxidant enzymes activities (catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, peroxidase, quinone reductase, and superoxide dismutase). On the other hand, CCl₄ treatment rised the γ -glutamyl transferase activity of brain samples. CCl₄ intoxication decreased the reduced glutathione (GSH) content combined with significantly growing lipid peroxidation in the same samples. Co-treatment of CPME obviously protected the brain tissues against CCl₄-indiced damages by recovered antioxidant enzymes and strengthened lipid peroxidation in a dose dependent mode. Such neuroprotective changes might be explained by available antioxidant components.

Defatted oil cakes are used in the production of protein concentrate and isolate. Protein extraction is carried out to perform further protein purification and concentration. So extraction with different solvents is a principal operation in manufacturing a range of protein preparations (Gia Loi Tu et al., 2015:485). Ultrasound- and enzyme-assisted extractions of albumin (water-soluble protein group) from defatted pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed powder were subjected to comparative analysis. These modern extraction techniques have strongly magni-

fied the yield of albumin fraction, if compared with conventional extraction technique. One of the advanced methods, the ultrasound-assisted technique has appeared to reveal two times higher extraction rate than that of the enzymatic-assisted extraction. However, the maximum albumin yield obtained by enzymatic albumin purification has been 16 % higher than ultrasonic extraction. Obtained pumpkin seed albumin concentrates have been studied by the Vietnamese scientists for their functional properties. This became possible due to application of conventional, enzymatic, and ultrasonic methods of evaluation. Cell wall distruction by the hydrolase digestion of the plant material has not influenced the functional properties of the albumin concentrate, when compared with the conventional way of extracting. The ultrasonic extraction enhanced water-retention, oil-retention and emulsifying capacities of the seed albumin concentrate. Simultaneously, this method has been shown to imperceptibly decrease the foaming capacity, besides emulsion and foam stabilities.

Cadmium (Cd) stress may be diminished by means of the phytochelatins (Pc) complexation, binding of the metal to metallothioneins and glutathione, followed by their sequestration inside of vacuoles (Kolb et al. 2010:92). Glutathione was proven to be a major party in Cd detoxification. This way is possible due to Cd ability to bind with a high affinity to thiols together with glutathione's ability to function as the precursor for Pc synthesis. In this study, the Austrian team has implied an immunohistochemical assay combined with transmission electron microscopy. This method has allowed to assess quantitatively intracellular distribution of glutathione under Cd stress in cells of the mesophyll and different types (long and short stalked) of glandular trichomes isolated from *Cucurbita pepo* L. subsp. *pepo* var. *styriaca* GREB. No ultrastructural alterations were found in leaf and glandular trichome cells upon plant treatment with 50 μ M cadmium chloride (CdCl₂) for 48 hours. However, all cells exhibited reduced glutathione concentrations. The strongest reduction was shown in nuclei and the cytosol (up to 76%) of glandular trichomes to be considered as 'major storing cells of leaf Cd accumulation. The glutathione ratio between the nuclei and the cytosol and the rest of the cell compartments was shown to severely drop only in glandular trichomes (over 50%). This has depicted that nuclear and cytosolic glutathione is crucial for the detoxification of Cd in glandular trichomes. Moreover, these research has demonstrated that large portion of Cd is released from nuclei in case of Cd exposure. So these data provide a new comprehension on organelle-specific

biochemical role of glutathione under Cd exposure happening to mesophyll cells and glandular trichomes of *C. pepo* plants.

Conclusion

This review demonstrated molecular data indicating two separate regions of domestication for the *Cucurbita pepo* complex. One of such zones (*C. pepo* subsp. *ovifera*), was attributed to Eastern part North America stretching out to Northeastern Mexico. The wild ancestor of domesticated *C. pepo* subsp. *pepo* remains unclear. However, it relates to *C. pepo* subsp. *fraterna* stemming out from Southern Mexico. Current research has shown that *C. pepo* grown on contaminated soil is able to lower total polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) contents by 30-40%. In addition *C. pepo* cultivation on organically impured soil may lead to 32% of root extension. So there is positive effect of *Cucurbitaceae* on soil phytotoxicity and subsequent recovery (Urbanik et al. 2017:405). Multiple medicinal potential of pumpkin is associated with cholagogue, diuretic, appetizer, anti-obesity, anti-insomnic, wound-healing, baby food, diet food, anthelmintic, anti-atherosclerotic, anti-aging, anti-eczemic, cosmetic treatment and other effects. Seeds and fruit organs of pumpkin are used as medicinal raw materials. Fruit mesocarp, pressed juice, decoctions, powders and liquors made of pumpkin stalks and flowers are widely used to long unhealing wounds, insomnia and other disturbances.

Over the past decade, efficient genetic transformation tools have been offered for pumpkins and squashes. One of such methods has been proposed for kabocha squash (*Cucurbita moschata* Duch. cv. Heiankogiku) based on wounding of cotyledonary node explants with aluminum borate whiskers preceding microbial inoculation with *Agrobacterium* (Nanasato et al. 2011:1461). Steps of transformation of *C. moschata* plants included seed germination, obtaining cotyledonary node explants with overnight dark pre-cultivation, stirring with aluminium whiskers, *Agrobacterium* inoculation, shoot regeneration and kanamycin incubation, shoot-root induction and elongation, selection of

true (non-chimeric) transgenes by auxiliary bud induction and transplantation to the soil.

Adventitious shoots were induced exclusively from the proximal regions of the cotyledonary nodes by cultivating on Murashige–Skoog agar medium with 1 mg/l benzyladenine. Stirring with 1% (w/v) aluminum borate whiskers promoted the *Agrobacterium* infection in the proximal zones of the explants. Transgenes were selected at the T0 generation by sGFP fluorescence, genomic PCR, and Southern blot analyses. These transgenes were shown to grow conditionally until T1 seeds formation and maturation. The authors revealed steady transduction of transgene's inheritance to T1 generation by sGFP fluorescence and genomic PCR analyses. The average transgenic efficiency for the kabocha squashes has achieved approximately 2.7%, admissible for practical implementation. This approach is useful for practical needs as gene engineered *Cucurbita spp.* have been delayed by difficulties in genetic transformation. Nanasato et al. (Nanasato et al. 2011:1465). have determined tools for molecular breeding of the *Cucurbita* genera.

One of perspective purposes for Kazakhstan is to maintain and characterize domestic collection of pumpkins, produce the pumpkin seed oil and develop pharmaceuticals to be exported as used for medical and food-supplying aims. To develop domestic collection of productive cultivars of mutiseed oilseed pumpkins with susustainable yield we have initiated pilot experiments in 2014. (Nurzhanova et al., 2014). To date three cultivars of oilseed pumpkin from Austria, Russia and China are available. In the future we hope to generate and submit to state trial highly productive cultivars and lines of pumpkins with essential oil content, fruit quality, resistance to a number of diseases as abiotic environmental factors. These forms will be subdivided by fruit size, vine branchin and the quality of oil-containing seeds.

From theoretical point, it is critical to study genetic power of the local pumpkin accessions, determine their expected and observed heterozygosity enhanced by intraspecific and interspecific hybridization in conditions of the South-East of Kazakhstan and wider.

References

- 1 Andolfo G., Di Donato A., Darrudi R., Errico A., Aiese Cigliano R., and Ercolano M.R. «Draft of Zucchini (*Cucurbita pepo* L.) Proteome: A Resource for Genetic and Genomic Studies», *Frontiers in Genetics* (2017): 1-5.
- 2 Andresen E., Peiter E., Küpper H. «Trace metal metabolism in plants», *Journal of Experimental Botany* 69(2018): 909–54.
- 3 Antoine J.M.R., Hoo Fung L. A., Grant C.N. «Assessment of the potential health risks associated with the aluminium, arse-

- nic, cadmium and lead content in selected fruits and vegetables grown in Jamaica», *Toxicology Reports* 4 (2017):181-87.
- 4 Arumuganathan, K., and Earle, E. D. «Nuclear DNA content of some important plant species nuclear DNA content material and methods», *Plant Mol. Biol. Rep.* 9(1991):208–18.
 - 5 Bardaa S., Ben Halima N., Aloui F., Ben Mansour R., Jabeur H., Bouaziz M., and Sahnoun Z. «Oil from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds: evaluation of its functional properties on wound healing in rats», *Lipids in Health and Disease* 15(2016):1-12.
 - 6 Blum A., Tuberosa R. «Dehydration survival of crop plants and its measurement», *Journal of Experimental Botany*, 69 (2018):975–81.
 - 7 Broznić D., Čanadi Jurešić G., Milin Č. «DPPH' Disappearance Kinetics in Pumpkin Seed Oil», *Food Technol. Biotechnol.* 54(2016):200–10.
 - 8 Carle, R.B. «Bisex sterility governed by a single recessive gene in *Cucurbita pepo* L. Report Cucurbit», *Genetics Cooperative*(1997):46-47
 - 9 Cuevas-Marrero, H., Wessel-Beaver, L. «Morphological and RAPD marker evidence of gene flow in open-pollinated populations of *Cucurbita moschata* interplanted with *C. argyrosperma*» (paper presented in the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. INRA, Avignon (France), May 21–24th, 2008):347–52.
 - 10 Curtis, L. «Heterosis in summer squash (*Cucurbita pepo*) and the possibilities of producing F 1 hybrid seed for commercial planting», *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* (1939):827-28.
 - 11 Decker, D.S. «Origin(s), evolution, and systematics of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae)», *Econ Bot* 42 (1988):4-15.
 - 12 Dey, S.S., Singh, A.K., Chandel, D., Behera, T.K. «Genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) genotypes revealed by RAPD markers and agronomic traits», *Scientia Horticulturae* 109(2006):21–28.
 - 13 Eevers N., Van Hamme J.D., Bottos E.M., Weyens N., Vangronsveld J. Draft «Genome Sequence of *Enterobacter aerogenes*, a DDE-Degrading and Plant Growth-Promoting Strain Isolated from *Cucurbita pepo*», *Genome Announcements* 3(2015):00317-15.
 - 14 Eevers N., Van Hamme J.D., Bottos E.M., Weyens N., Vangronsveld J. «Draft Genome Sequence of *Methylobacterium radiotolerans*, a DDE-Degrading and Plant Growth-Promoting Strain Isolated from *Cucurbita pepo*», *Genome Announcements* 3(2015):00488-15.
 - 15 Eevers N., Van Hamme J.D., Bottos E.M., Weyens N., Vangronsveld J. «*Spingomonas taxi*, Isolated from *Cucurbita pepo*, Proves to Be a DDE-Degrading and Plant Growth-Promoting Strain», *Genome Announcements* 3(2015):00489-15.
 - 16 Formisano, G., Roig, C., Esteras, C., Ercolano, M.R., Nuez, F., Monforte, A.J., Picó, M.B.. «Genetic diversity of Spanish *Cucurbita pepo* landraces: an unexploited resource for summer squash breeding», *Genet. Resour. Crop Evol.* 59(2012):1169–84.
 - 17 Fuchs, M., D.M. Tricoli, K.J. Carney, M. Schesser, J.R. McFerson, and D. Gonsalves. «Comparative virus resistance and fruit yield of transgenic squash with single and multiple coat protein genes. *Plant Disease*», 82(1998):1350-56.
 - 18 Gajera, B.B., Kumar, N., Singh, A.S., Punvar, B.S., Ravikiran, R., Subhash, N., Jadeja, G.C. «Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD and ISSR markers», *Ind. Crop Prod.* 32(2010):491–98.
 - 19 Garcia, A.A.F., Benchimol, L.L., Barbosa, A.M.M., Geraldi, I.O., Souza Jr, C.L., de Souza, A.P. «Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines», *Genet. Mol. Biol.* 27 (2004):579–88.
 - 20 Gia Loi Tu, Thi Hoang Nga Bui, Thi Thu Tra Tran, Nu Minh Nguyet Ton and Van Viet Man Le «Comparison of Enzymatic and Ultrasonic Extraction of Albumin from Defatted Pumpkin (*Cucurbita pepo*) Seed Powder. *Food Technol. Biotechnol.* 53(2015):479–87.
 - 21 Gong, L., Stift, G., Kofler, R., Pachner, M., Lelley, T. «Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L.» *Theor. Appl. Genet.* 117(2008): 37–48.
 - 22 Grzybek M., Kukuła-Koch W., Strachecka A., Jaworska A., Phiri A.M., Paleolog J., and Tomczuk K. «Evaluation of Anthelmintic Activity and Composition of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extracts-In Vitro and in Vivo Studies» *Int. J. Mol. Sci.*, 17(2016):1-21.
 - 23 Gutsalyuk T.G. From melon to pumpkin. Kainar (Almaty, 1989), 272 pp. (Rus.)
 - 24 Hadia, H.A., Abdel-Razzak, H.S., Hafez, E.E. «Assessment of genetic relationships among and within *Cucurbita* species using RAPD and ISSR markers», *J. Appl. Sci. Res.* 4(2008): 515–25.
 - 25 Hartwell, K. *A Light-Hearted Guide to the Health Benefits of Fruits & Vegetables*. Publisher: Author Cloud; 1 edition (June 18, 2012):506–16.
 - 26 Hernández-Terán A., Wegier A., Benítez M., Lira R., and Escalante A.E. «Domesticated, Genetically Engineered, and Wild Plant Relatives Exhibit Unintended Phenotypic Differences: A Comparative Meta-Analysis Profiling Rice, Canola, Maize, Sunflower, and Pumpkin», *Frontiers in Plant Science* 8(2017):1-10.
 - 27 Hülster A., Müller J.F., Marschner H. «Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family (Cucurbitaceae)», *Environ Sci Technol* 28(1994):1110–1115.
 - 28 Inui H., Sawada M., Goto J., Yamazaki K., Kodama N., Tsuruta H., Eun H. «A Major Latex-Like Protein Is a Key Factor in Crop Contamination by Persistent Organic Pollutants», *Plant Physiology*, 161(2013):2128–35.
 - 29 Jeffrey, C. «A review of the Cucurbitaceae», *Bot. J. Linn. Soc.* 81(1980):233–47.
 - 30 Joldersma D., Zhongchi Liu. «The making of virgin fruit: the molecular and genetic basis of parthenocarpy». *Journal of Experimental Botany*, 69(2018):955–62.
 - 31 Kelley W.T., G.E. Boyhan, and D.M. Granberry. «Variety Selection and Culture» in *Commercial Production and Management of Pumpkins and Gourds* edited by T. Kelley and J. David B. Langston (University of Georgia Cooperative Extension Service, Athens, GA. 2001).
 - 32 Khan, A.S.M.M.R., Rabbani, M.G., Islam, M.S., Rashid, M.H., Alam, A.K.M.M. «Genetic diversity in pointed gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb) revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers», *Thai J. Agric. Sci.* 42(2009):61–69.

- 33 King S.R., Davis A.R., and Wehner T.C.. «Classical Genetics and Traditional Breeding» in: Genetics, genomics and breeding of cucurbits edited by Y.-H. Wang, et al. (Science Publishers; Distributed by CRC Press, St. Helier, Jersey; Enfield, N.H.; Boca Raton, FL. pp. 2012), 61-92.
- 34 Kolb D., Müller M., Zellnig G., and Zechmann B. «Cadmium induced changes in subcellular glutathione contents within glandular trichomes of *Cucurbita pepo* L.», *Protoplasma*, 243(2010):87-94
- 35 Lelley T., B. Loy, and M. Murkovic. «Hull-Less Oil Seed Pumpkin Oil Crops. In: J. Vollmann and I. Rajcan (Eds.), Oil crop breeding and genetics (Springer New York, 2010),469-92.
- 36 Loy B. A «Recessive Tendrilless Mutant in Ornamental Pumpkin. *Cucurbit Genetics*», Cooperative Report 35-36 (2012-2013):31-32
- 37 Martínez-Valdivieso D., Font R., Fernández-Bedmar Z., Merinas-Amo T., Gómez P., Alonso-Moraga Á., and del Río-Celestino M. «Role of Zucchini and Its Distinctive Components in the Modulation of Degenerative Processes: Genotoxicity, Anti-Genotoxicity, Cytotoxicity and Apoptotic Effects», *Nutrients* 9(2017):1-22.
- 38 Martins S., Pinto Carmide O., Ribeiro de Carvalho C., Carmide V. «Assessing genetic diversity in landraces of *Cucurbita* spp. using a morphological and molecular approaches», *Procedia Environmental Sciences* 29(2015):68 – 69.
- 39 Mitchell, M. N., Ocamb, C. M., Grunwald, N. J., Mancino, L., and Gent, D.H. «Genetic and pathogenic relatedness of *Pseudoperonospora cubensis* and *P. humuli*», *Phytopathology* 101(2011):805–818.
- 40 Montero-Pau, J., Blanca, J., Bombarely, A., Ziarsolo, P., Esteras, C., Martí-Gómez, C., et al. «De-novo assembly of zucchini genome reveals a whole genome duplication associated with the origin of the *Cucurbita* genus», *Plant Biotechnology Journal* 2(2017):1-11
- 41 Morimoto, Y., Maundu, P., Kawase, M., Fujimaki, H., Morishima, H. «RAPD poly-morphism of the white-flowered gourd (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) landraces and its wild relatives in Kenya», *Genet. Resour. Crop Evol.* 53(2006):963–74.
- 42 Nanasato Y., Konagaya K., Okuzaki A., Tsuda M., Tabei Y. «Agrobacterium-mediated transformation of kabocha squash (*Cucurbita moschata* Duch.) induced by wounding with aluminum borate whiskers», *Plant Cell Rep.* 30(2011):1455–64.
- 43 Navajas, M., Fenton, B. «The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review», *Exp. Appl. Acarol.* 24(2000):751–74.
- 44 Nderitu K.W., Mwenda, N.S., Macharia N.J., Barasa S.S., and Ngugi M.P. «Antiobesity Activities of Methanolic Extracts of *Amaranthus dubius*, *Cucurbita pepo*, and *Vigna unguiculata* in Progesterone-Induced Obese Mice», *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* (2017):1-10.
- 45 Nee, M. «The domestication of *Cucurbita* (*Cucurbitaceae*)», *Econ Bot* 44 (1990):44-56.
- 46 Ntuli N.R., Tongoona P.B., Zobolo A.M. «Genetic diversity in *Cucurbita pepo* landraces revealed by RAPD and SSR markers», *Scientia Horticulturae*, 189(2015):192–200.
- 47 Nurzhanova A., Kalugin S., Ermekova M Tagaev Q., Zhumabaeva D., Aytasheva Z. «Pumpkin and its extraction capacities for organochloride pesticides in Kazakhstan». // *Bulletin Kaznu, Ser.Ecology* 2(2014):174-78.
- 48 Paris, H. S. «A proposed subspecific classification for *Cucurbita pepo*». *Phytologia*, 61(1986):133–38.
- 49 Paris, H. S. «History of the Cultivar-Groups of *Cucurbita pepo*», *Horticult. Rev.* 25(2010): 71–170.
- 50 Peiretti P.G., Meineri G., Gai F., Longato E., Amarowicz R. «Antioxidative activities and phenolic compounds of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seeds and amaranth (*Amaranthus caudatus*) grain extracts», *Nat. Prod. Res.*, 31(2017):2178-82.
- 51 Robinson, R.W., T.H. Whitaker, and G.W. Bohn. «Promotion of pistillate flowering in *Cucurbita* by 2-chloroethylphosphonic acid». *Euphytica*, 19(1970):180-83.
- 52 Runge, F., & Thines, M. «Reevaluation of host specificity of the closely related species *Pseudoperonospora humuli* and *P. cubensis*», *Plant Disease* 96(2012):55–61.
- 53 Sanjur O.I., Piperno D.R., Andres T.C., and Wessel-Beaver L. «Phylogenetic relationships among domesticated and wild species of *Cucurbita* (*Cucurbitaceae*) inferred from a mitochondrial gene: Implications for crop plant evolution and areas of origin», *Proceedings of Natl.Acad.Sci.* 99(2002):535–40.
- 54 Scott, D.H., and River M.E. «Inheritance of male sterility in winter squash». *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*47(1946):375-77.
- 55 Scott, G.W.. «Observations on some inbred lines of bush types of *Cucurbita pepo*. *Proceedings. American Society for Horticultural Science*, 32(1935):480
- 56 Shuler, R.E., T.A.H. Roulston, and G.E. Farris. «Farming practices influence wild pollinator populations on squash and pumpkin», *Journal of Economic Entomology* 98(2005):790-795
- 57 Smith, B.D. «The Initial Domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10,000 Years Ago. *Science*, 276(1997):932-34.
- 58 Sommerburg O., Keunen J.E.E., Bird A.C., van Kuijk F.J.G.M. Brazilian J. «Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes», *Ophthalmol.* 82(1998):907–10.
- 59 Thomas A., Carbone I., Choe K., Quesada-Ocampo L.M., Ojiambo P.S. «Resurgence of cucurbit downy mildew in the United States: Insights from comparative genomic analysis of *Pseudoperonospora cubensis*», *Ecology and Evolution* 7(2017):6231–46.
- 60 Tsivelikas, A.L., Koutita, O., Anastasiadou, A., Skaracis, G.N., Traka-Mavrona, E., Koutsika-Sotiriou, M. «Description and analysis of genetic diversity among squash accessions. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52(2009):271–83.
- 61 Urbaniak M., Wyrwicka A., Zielinski M., Mankiewicz-Boczek J. «Potential for Phytoremediation of PCDD/PCDF-Contaminated Sludge and Sediments Using *Cucurbitaceae* Plants: A Pilot Study», *Bull Environ Contam Toxicol* 97 (2016):401–406.
- 62 Van Aken B., Correa P.A., and Schnoor J.L. «Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyls: New Trends and Promises», *Environ. Sci. Technol.* 44(2010):2767–76.
- 63 Vitiello A, Scarano D, D'Agostino N, Digilio MC, Pennacchio F, Corrado G, Rao R. «Unraveling zucchini transcriptome response to aphids» *Peer J. PrePrints* 4 (2016):1635.

- 64 Wang, Y. H., Behera, T. K., and Kole, C. *Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits* (CRC Press, 2011):425 pp.
- 65 Wehner T.C. «Heterosis in vegetable crops» in «The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops» edited by J. G. Coors and S. Pandey (Madison: American Society of Agronomy, and Crop Science Society of America, 1999),387-97.
- 66 Whitaker T. W., Carter G.F. «Critical Notes on the Origin and Domestication of the Cultivated Species of Cucurbita». *American Journal of Botany* 33(1946):10-15.
- 67 Whitaker, T.W., and Davis G.N. *Cucurbits: botany, cultivation, and utilization*. (New York, Interscience, 1962), 250pp.
- 68 Whitaker, T.W., Robinson, R.W. «Squash breeding» in «Breeding vegetable crops» edited by Bassett, M.J. (Westport, Connecticut : Avi,1986), 209-42.
- 69 Wien, H.C. «The cucurbits: cucumber, melon, squash and pumpkin. The Cucurbits: Cucumber, Melon, Squash and Pumpkin» in «The Physiology of Vegetable Crops» edited by Wien, H.C. (New York, NY, CAB International, 1997), 345-86.
- 70 Wolfe, K., and A. Luke-Morgan. «Georgia Gate Farm Value Report» in: «T. C. f. A. E. Development» (University of Georgia, Athens, GA College of Agricultural and Environmental Sciences, 2011), 185 pp.
- 71 Wolfe K., and K. Stubbs. «Georgia Gate Farm Value Report» in: «T. C. f. A. E. Development» (University of Georgia, Athens, GA College of Agricultural and Environmental Sciences, 2017), 180 pp.
- 72 Wyatt, L. E., Strickler, S. R., Mueller, L. A., and Mazourek, M. «An acorn squash (*Cucurbita pepo* ssp. *ovifera*) fruit and seed transcriptome as a resource for the study of fruit traits in *Cucurbita*» *Hortic. Res.* 2(2015):14070.
- 73 Wyatt L.E., Strickler S.R., Mueller L.A., and Mazourek M. «Comparative analysis of *Cucurbita pepo* metabolism throughout fruit development in acorn squash and oilseed pumpkin» *Horticulture Research* 3(2016):1-12.
- 74 Xanthopoulou, A., Psomopoulos, F., Ganopoulos, I., Manioudaki, M., Tsaftaris, A., Naniou-Obeidat, I., et al. «De novo transcriptome assembly of two contrasting pumpkin cultivars» *Genom. Data* 7(2016):200–201.
- 75 Xanthopoulou, A., Ganopoulos, I., Psomopoulos, F., Manioudaki, M., Moysiadis, T., Kapazoglou, A., Osathanunkul M., Michailidou S., Kalivas A., Tsaftaris A., Naniou-Obeidat I., Madesis P. «De novo comparative transcriptome analysis of genes involved in fruit morphology of pumpkin cultivars with extreme size difference and development of EST-SSR markers» *Gene* 622(2017):50–66.
- 76 Zaib S., Khan M.R. «Protective effect of *Cucurbita pepo* fruit peel against CCl₄ induced neurotoxicity in rat» *Pak J Pharm Sci.*, 27(2014):1967-73.
- 77 Zhang, Q., E.D. Yu, and Medina A. «Development of advanced interspecific-bridge lines among *Cucurbita pepo*, *C. maxima*, and *C. moschata*» *Hort. Science*, 47(2012):452-58.

1-бөлім
**ҚОРШАҒАН ОРТАНЫ ҚОРҒАУ
ЖӘНЕ ҚОРШАҒАН ОРТАҒА
АНТРОПОГЕНДІК ФАКТОРЛАРДЫҢ ӘСЕРІ**

Раздел 1
**ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ
АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ
И ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Section 1
**ENVIRONMENTAL IMPACT
OF ANTHROPOGENIC FACTORS
AND ENVIRONMENTAL PROTECTION**

**Baktybayeva L.K.^{1*}, Tauassarova M.K.¹, Berlin Kenneth Darrell²,
Yu V.K.³, Zazybin A.G.³, Malmakova A.E.³**

¹ PhD, associate professor of al-Farabi Kazakh National university, Almaty, Kazakhstan

²Oklahoma State University, Center for Health Sciences, Stillwater, Oklahoma City, USA

³Institute of Chemical Sciences named after A. B. Bekturov, Almaty, Kazakhstan; Kazakh-British Technical University, School of Chemical Engineering, Almaty, Kazakhstan, *e-mail: Layilia.Baktybaeva@kaznu.kz

MYELOSTIMULATING ACTIVITY OF PIPERIDINE COMPOUNDS BIV-68, BIV-69, BIV-70, BIV-71

The urgency of engineering of new effective myelostimulating drugs substantiated by the growing percentage of incidence of various diseases hemodepression. One of the factors in the development of depressive diseases are negative environmental factors. Various kinds of radiation, heavy metals, petroleum products (solution Shtoddart), trinitrotoluol, pesticides, organochlorine compounds, lindane (gamma-hexachlorocyclohexane), DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane), many drugs have a myelostimulating suppressive effect. Therefore, the search myelostimulating drugs relevant today. In addition, myelostimulating are widely used in ophthalmology and biotechnology. The newly synthesized azaheterocycles compounds with piperidinium core was investigated on myelostimulating activity on the cyclophosphamide myelodepressive model. Complex of 3-(3ethoxypropyl)-7-(2-morpholinoethyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan with β -cyclodextrin is compound BIV-68. Compound BIV-69 is presented 3-(3-i-propoxypropyl)-7-[2-(1-piperazine)ethyl-]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan as complex of with β -cyclodextrin. 3,7-Diazabicyclo [3.3.1] nonane-9-one is fairly easily converted to oximes by treatment with hydroxylamine hydrochloride. Following benzylation leads to benzoic ester, whose complex with β -cyclodextrin is BIV-70. Complex of 1-(2-ethoxyethyl)-4-(oct-1-yn-1-yl) piperidin-4-yl propionate with β -cyclodextrin is compound BIV-71. The compound of the BIV-69 had a high myelostimulating effect on the proliferation lymphomyeloid pools of blood on the cyclophosphamide myelodepressive model. By activity compounds BIV-71, BIV-68 and BIV-70 was inferior to the compound of the BIV-69. Thus, azaheterocycles compounds with piperidinium core are perspective for search of new effective myelostimulating drugs.

Key words: N-alkoxyalkyl piperidines, diazabicyclononanes, benzoyloxime, 14-(oct-1-yn-1-yl)piperidin-4-yl propionate, myelostimulating activity.

Бақтыбаева Л.Қ.^{1*}, Тауассарова М.К.¹, Берлин Кеннет Даррелл²,
Ю В.К.³, Зазыбин А.Г.³, Малмакова А.Е.³

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

²Оклахома Ұлттық университеті, Денсаулық Ғылымдар орталығы, Стилуотер, Оклахома-Сити, АҚШ

³А.Б. Бектуров атындағы Химия ғылымдар институты, Қазақстан, Алматы қ.; Қазақ-Британ Техникалық Университеті, химия-технологиялық факультеті, Қазақстан, Алматы қ.,

*e-mail: Layilia.Baktybaeva@kaznu.kz

БИВ-68, БИВ-69, БИВ-70, БИВ-71 қосылыстардың миелостимулдаушы белсенділігі

Әр түрлі гемодепрессивті ауруларға шалдығудың пайызы өсуіне байланысты жаңа тиімді миелостимулдаушы препараттарды әзірлеу өзектілігімен негізделеді. Гемодепрессиялық аурулардың өршуіне әсер ететін факторлардың бірі – жағымсыз экологиялық факторлар бо-лып табылады. Әр түрлі сәулелену, ауыр металдар, мұнай өндеу өнімдері (Штоддарт ерітінді-сі), тринитротолуол, пестицидтер, хлорорганикалық препараттар, лндан (гамма-гексахлор-циклогексан), ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан), дәрілердің көбісі миелосупрессивті әрекеттілігіне ие болады. Сондықтан миелостимулдаушы препараттарды анықтау бүгінгі өзекті

мәселе боп табылады. Сонымен қатар, офтальмология мен биотехнологияда миелостимуляторлар кеңінен қолданылып келеді. Жаңа синтезделген пиперидинді ядросы бар азаетероциклді қосылыстардың миелостимулдаушы активтілігін анықтау үшін циклофосфамидті миелодепрессивті моделінде зерттелінді. β -циклодекстринмен қосылған 3-(3-этоксипропил)-7-(2-морфолиноэтил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан комплекс БИВ-68 қосылысы болып табылады. Қосылысы БИВ-69 3-(3-і-пропоксипропил)-7-[2-(1-пиперазин)этил-]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан β -циклодекстринмен қосылған түрімен көрсетілген. 3,7-Диазабицикло[3.3.1]нонано-9 қосылыстардың арасында гидроксидин гидрохлоридімен оңай оксилір-ленетін қосылыс. Соны бензой эфирмен бензоилірулеу нәтижесінде және β -циклодекстринмен қосылған түрі – БИВ-70 қосылысы болып табылады. Комплекс 1-(2-этоксипропил)-4-(окт-1-ин-1-ил) пиперидин-4-ил пропионат β -циклодекстринмен қосылған БИВ-71 қосылысы болып табылады. Циклофосфамидті миелосупрессия фонында БИВ-69 қосылысы қан лимфо-миелоидтық пул пролиферациясына жоғары миелостимулдаушы әсерін көрсетті. БИВ-71, БИВ-68 және БИВ-70 қосылыстардың белсенділігі БИВ-69 қосылысына қарағанда нашарлау. Осылайша, пиперидин ядросымен азаетероциклді қосылыстар жаңа жоғары тиімді миелостимулдаушы препараттарды анықтау үшін ғылыми-зерттеу жұмыстарын өткізу перспективті болып табылады.

Түйін сөздер: N-алкоксиалкил пиперидиндер, диазабициклонондар, 14-(окт-1-ин-1-ил) пиперидин-4-ила пропионат, миелостимулдаушы белсенділік.

Бактыбаева Л.К.^{1*}, Тауассарова М.К.¹, Берлин Кеннет Даррелл², Ю В.К.³, Зазыбин А.Г.³, Малмакова А.Е.³

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

²Оклахомский Государственный университет, Центр наук о здоровье, США, Стилуо-тер, Оклахома Сити

³Институт химических наук имени А. Б. Бектурова, Казахстан, г. Алматы

Казахско-Британский технический университет, химико-технологический факультет, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: Layilia.Baktybaeva@kaznu.kz

Миелостимулирующая активность соединений БИВ-68, БИВ-69, БИВ-70, БИВ-71

Актуальность разработки новых эффективных миелостимулирующих препаратов обоснована растущим процентом заболеваемости различными гемодепрессивными заболеваниями. Одним из факторов развития гемодепрессивных заболеваний являются негативные экологические факторы среды. Различного рода излучения, тяжелые металлы, продукты нефтеперегонки (раствор Шторддарт), тринитротолуол, пестициды, хлорорганические препараты, лндан (гамма-гексахлорциклогексан), ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан), мно-гие препараты обладают миелосупрессивным действием. Поэтому поиск миелостимулирующих препаратов актуален на сегодняшний день. Кроме того, миелостимуляторы находят ши-рокое применение в офтальмологии, биотехнологии. Новосинтезированные азаетероциклические соединения с пиперидиновым ядром были исследованы на миелостимулирующую активность на модели циклофосфамидной миелодепрессии. Комплекс 3-(3-этоксипропил)-7-(2-морфолиноэтил)-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -циклодекстрином является соединением БИВ-68. Соединение БИВ-69 представлено 3-(3-і-пропоксипропил)-7-[2-(1-пиперазин)этил-]-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонаном в комплексе с β -циклодекстрином. 3,7-Диазабицикло[3.3.1]нонано-9 один из легко превращающихся при оксилировании с гидроксидин гидрохлоридом соединений. Его бензоилрование с бензойным эфиром привело к образованию комплексного соединения с β -циклодекстрином – это и есть соединение БИВ-70. Комплекс 1-(2-этоксипропил)-4-(окт-1-ин-1-ил) пиперидин-4-ил пропионат с β -циклодекстрином является соединением БИВ-71. Соединение БИВ-69 оказывало высокое миелостимулирующее действие на пролиферацию лимфомиелоидных пулов крови на фоне циклофосфамидной миелосупрессии. По активности соединения БИВ-71, БИВ-68 и БИВ-70 уступали соединению БИВ-69. Таким образом, азаетероциклические соединения с пиперидиновым ядром являются перспективными для поиска новых эффективных миелостимулирующих препаратов.

Ключевые слова: N-алкоксиалкил пиперидины, диазабициклононаны, 14-(окт-1-ин-1-ил) пиперидин-4-ила пропионат, миелостимулирующая активность.

Introduction

The urgency of the development of new effective myelostimulating drugs is justified by the growth of the incidence of various haemodpressive diseases. Haemodpressive diseases develop with

malnutrition, chronic blood loss, living conditions in ecologically unfavorable regions, heavy loads for athletes and people engaged in heavy production, chronic stress, post-recovery period, various types of diseases, etc. Some patients have aplasia of hematopoiesis or cytopenia developed during

treatment with antituberculous agents (streptomycin, thiacetazone, isoniazid, P-aminosalicylic acid, dimethylcarbazine). In these cases, treatment was more often carried out for a long time, for example, 11, 13 and 14 months. The period of pancytopenia lasted from 0.8 to 1.5 months. There were lethal outcomes from thrombocytopenic hemorrhages, despite the use of myelostimulating agents - oximetalone 300 mg/day, darabolil at 600 mg/day, etc. (Kirpal Das Makheja, 2013:1110). When analyzing such observations, attention is drawn to the occurrence of hematopoiesis hypoplasia after courses of therapy of varying duration. Perhaps, this circumstance should be considered as a sign of an abnormal immunological reaction, independent of the dose of the drug. The onset of immunological reaction may be irreversible. Benzene and its derivatives of the chemical compounds should be noted, especially with prolonged exposure. Many researchers note their ability to induce chromosomal changes in hematopoietic cells (hyperdiploidy, hypodiploidy, etc.), which has numerous confirmations (Khunger, 2002: 378; Shimamura, 2008: 11121). A solution of Stordart (oil distillate), trinitrotoluene, pesticides, especially organochlorine preparations, lindane (gamma-hexachlorocyclohexane) and DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) can be inhibition of hematopoiesis (Khunger, 2002: 378) observed 8 patients who had contact with pesticides, 7 of them had panmyelophthisis, 1 had thrombocytopenia, and 5 died (Jha, 2008:15). The mechanism of pesticides action on hemopoiesis is still not clear enough. Nevertheless, their ability to accumulate mainly in adipose tissue, in particular in the bone marrow, is known. It is assumed that pesticides directly damage hematopoietic precursor cells or immunoallergic genesis of hematopoietic tissue function disorders. There is also the possibility of haemoderepression due to a decrease in the detoxification properties of the liver and kidneys, as well as congenital insufficiency of liver enzyme systems.

Hemopoiesis is inhibited by radiation from various sources. Currently, in medical clinical practice, drugs with myelosuppressive action are used. In particular, all cytostatics, second and third generation antibiotics, hormones, antihypertensive drugs, sulfonamides, anticonvulsants, etc. Therefore, the search for myelostimulating drugs is relevant for today. In addition, myelostimulators find wide application in ophthalmology, biotechnology.

Materials and Methods

For study myelostimulating activity, the following compounds were taken: complex of

3-(3ethoxypropyl)-7-(2-morpholinoethyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan with β -cyclodextrin (I) is BIV-68, 3-(3-i-propoxypropyl)-7-[2-(1-piperazine) ethyl-]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan as complex of with β -cyclodextrin (II) is BIV-69. 3,7-Diazabicyclo [3.3.1] nonane-9-one is fairly easily converted to oximes by treatment with hydroxylamine hydrochloride. Following benzoilation leads to benzoic ester, whose complex with β -cyclodextrin(III) is BIV-70. It was interesting to study the influence of the hydrocarbon chain (C₆H₁₃) at the triple bond on biological activity. Ethynylation of N-alkoxyalkyl piperidin-4-one with hexylacetylene in the presence of KOH leads to 1- (2-ethoxyethyl)-4- (oct-1-yn-1-yl) piperidin-4-ol. Complex of 1- (2-ethoxyethyl)-4-(oct-1-yn-1-yl) piperidin-4-yl propionate with β -cyclodextrin (IV) is BIV-71(Figure 1).

Healthy mature animals of laboratory rats of both sexes, 10-15 weeks old, weighing 210-280 g were used in the work. The spread in groups by the initial body weight did not exceed $\pm 10\%$. The animals were obtained simultaneously from one nursery - biological clinic of the Faculty of Biology and Biotechnology of al-Farabi KazNU. Before and during the experiment, control and experimental animals were kept in the same standard conditions, on a standard diet, 6 animals per cage. All types of experiments were carried out in accordance with the chronobiological principles of work and according to «Rules for preclinical (non-clinical) studies of biologically active substances» (Order of the Minister of Health of the Republic of Kazakhstan dated November 19, 2009 No. 745 «On the Approval of the Rules for Preclinical (Non-Clinical) Studies of Biologically Active substances»). Blood sampling was carried out from the orbital vein of rats anesthetized with mild ether anesthesia at 09.00 am. The blood test was performed on a hematological analyzer for laboratory animals «Abacus junior vet» (Diatron, Denmark). The blood leukogram was monitored by microscopy of a smear stained by Romanovsky-Giemsa on a SA3300C microscope for microscopy and digital micrographs under immersion (magnification 7x100) of 500 cells per each smear. Myelosuppression was caused by the injection of a cytostatic sodium cyclophosphamide at a dose of 30 mg/kg of the weight of the animal dissolved in physiological saline in a volume of 0.5 ml three times at intervals of 24 hours. Then on 6th, 8th, 10th day of observation, once a day intramuscularly injected: group 1 - BIV-69 in a dose of 5 mg/kg (for all tested compounds, the solvent was saline) in a volume of 0.5 ml, 2nd group - BIV-70 compound at a dose of 5 mg/kg in a volume of

0.5 ml, in the third group - BIV-71 at a dose of 5 mg/kg in a volume of 0.5 ml, the 4th group of the drug levamisole in dose 0.4 mg/kg in the volume of 0.5 ml, 5th group (control) no injections after the injection of cyclophosphamide, the 6th group - placebo (physiological solution) in a volume of 0.5 ml (Mashkovsky M.D., 1986:169).

Experiments on the bone marrow were carried out on white pedigreed mature mice of both sexes weighing 21-26 g, 448 individuals. The animals were divided into 7 groups with 64 mice each. The 7th group was intact (no cyclophosphamide and test compounds were injected). The remaining groups were injected once, intraperitoneally with cyclophosphamide 160 mg/kg (solvent saline) in a volume of 0.5 ml. On the 3rd, 4th, 5th day of the observation, once a day, intramuscularly injected: group 1 - BIV-68 at a dose of 5 mg/kg (for all investigated compounds, the solvent was physiological saline) in a volume of 0.2 ml, 2nd group BIV-69 in a dose of 5 mg/kg in the volume of 0.2 ml, in the third group - BIV-70 at a dose of 5 mg/kg in a volume of 0.2 ml, in the 4th group - BIV-71 in a dose of 5 mg/kg in a volume of 0.2 ml, the 5th group of levamisole in a dose of 0.4 mg/kg in a volume of 0.2 ml, the 6th group (control) no injections after cyclophosphamide, 7th group - placebo (saline) in a volume of 0.2 ml. Animal slaughter was performed by cervical dislocation of the spinal cord in the cervical region at 2, 4, 6, 8, 10, 14, 21, 28 days of

observation. Bone marrow from the femurs was used to prepare smears and determine the number of cariocytes (nucleated cells - NC) per femur. Bone marrow smears were stained by Romanovsky-Giemsa method, the myelogram was counted on a microscope SA3300C for microscopy and digital micrographs under immersion (magnification 7x100) of 500 cells per each smear, then the relative amount of each type of bone marrow cells was counted in absolute by a femur (Praliev, 2015:70). The statistical processing of the data was carried out using Student's t test. The biological activity and acute toxicity of the new compounds were compared with the data of the reference drug: methyluracil.

Results and Discussion

Chemical research results

Inexhaustible biological potential is embedded in molecules having a piperidine ring as a fragment. We have successfully carried out research on the synthetic modification of N-alkoxyalkyl piperidin-4-ones to produce new biologically active substances. The choice of N-alkoxyalkyl piperidin-4-ones is dictated by the availability of the molecule, the high reactivity of the ketone group and the hydrogen atoms at the α -position to C = O of piperidine cycle and, mainly, biological potential of the saturated azacycle.

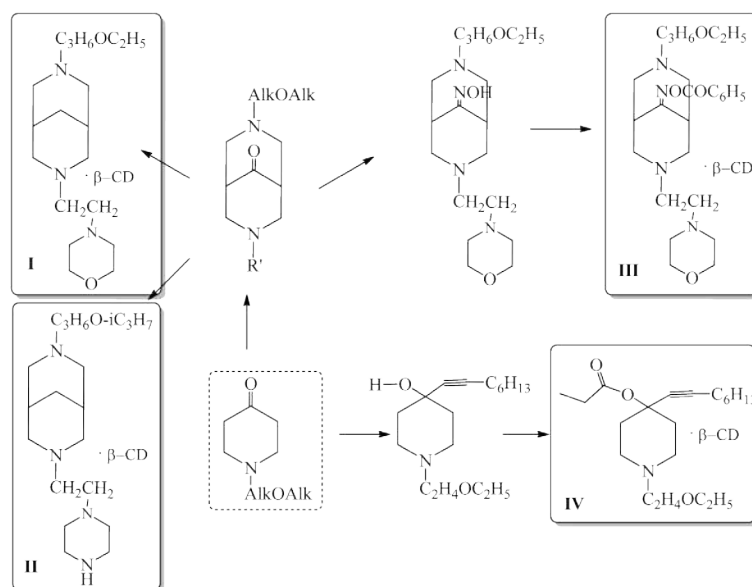


Figure 1 – Chemical formula of compounds.

3,7-Diazabicyclo [3.3.1] nonane-9-one is fairly easily converted to oximes by treatment with hydroxylamine hydrochloride.

Following benzoylation leads to benzoic ester, whose complex with β -cyclodextrin (III) is BIV-70 (Figure 1).

It was interesting to study the influence of the hydrocarbon chain (C₆H₁₃) at the triple bond on biological activity. Ethynylation of N-alkoxyalkyl piperidin-4-one with hexylacetylene in the presence of KOH leads to 1- (2-ethoxyethyl)-4- (oct-1-yn-1-yl) piperidin-4-ol. Complex of 1- (2-ethoxyethyl)-4-(oct-1-yn-1-yl) piperidin-4-yl propionate with β -cyclodextrin (IV) is BIV-71 (Figure 1).

Simultaneous condensation of N-alkoxyalkyl piperidin-4-ones with paraformaldehyde and [2-morpholinoethyl- or 2-(1-piperazine)ethyl-] amine in methanol+acetic acid led to corresponding 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane-9-ones with a yield of 40-60%. Reduction of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane-9-ones in conditions of a Wolff-Kishner reaction by hydrazine hydrate in triethylene glycol in the presence of KOH gave the corresponding 3,7-diazabicyclononane in a yield of 57%. Complex of 3-(3-ethoxypropyl)-7-(2-morpholinoethyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan with β -cyclodextrin (I) is BIV-68. BIV-68 is presented by 3-(3-*i*-propoxypropyl)-7-[2-(1-piperazine)ethyl-]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan as complex of with β -cyclodextrin (II) (Figure 1).

Biological research results

The control values obtained from intact animals admitted to the experiment were within the physiological norm. The leukocyte count (9.1 ± 2.5) $\cdot 10^9/L$ of blood, with a lymphocyte (4.9 ± 1.1) $\cdot 10^9/L$ blood, which was (54.0 ± 0.9) %. Granulocyte leukocytes had a value (3.64 ± 0.9) $\cdot 10^9/L$ of blood with a percentage ratio in the leukogram (40.0 ± 0.4) % (Table 1). The monocyte index (0.5 ± 0.0) $\cdot 10^9/L$ of blood was minimal, which according to the leukogram was (6.0 ± 0.7) %. Also, the numbers of erythrocytes and platelets were normal. The erythrocyte index was (7.5 ± 1.4) $\cdot 10^{12}/L$ of blood with a hemoglobin content (160.7 ± 1.2) g/L of blood and accordingly a hematocrit (39.8 ± 1.9) % (Table 1). The platelet score was also normal (350.6 ± 3.6) $\cdot 10^9/L$ blood, as well as thrombocrit was (12.6 ± 0.3) %. In general, the main indicators of blood, received for the experiment of animals, were normal.

Directed immunosuppressive effect of sodium cyclophosphamide injection led to a mielodepressive syndrome with a drop in blood counts already on the first day after injection. The total leukocyte count was (4.15 ± 1.2) $\cdot 10^9/L$ of blood, i.e. with a decrease by 2,19 times ($p \leq 0.05$) and on the 3rd day after the administration the level of leukocytes was (2.68 ± 0.54) $\cdot 10^9/L$ of blood, which was 3.40 times decrease compared with control value ($p \leq 0.01$) (Table 1). Significant negative changes in the cell pools of lymphocytes, granulocytes, monocytes were noted according to the blood leukogram. The indices of immunocompetent cells-lymphocytes from the control value (5.46 ± 1.1) $\cdot 10^9/L$ of blood decreased on the 1st day to (2.46 ± 0.75) $\cdot 10^9/L$ of blood and on the 3rd day reached even (1.22 ± 0.18) $\cdot 10^9/L$ of blood, i.e. by 2.74 times ($p \leq 0.05$) (Table 1). Even more significant changes occurred

in the cellular populations of granulocytes. The level of granulocyte leukocytes from the value (3.64 ± 0.9) $\cdot 10^9/L$ of blood decreased by the 1st day to (1.33 ± 0.18) $\cdot 10^9/L$ of blood, i.e. by 5.28 times ($p \leq 0.01$). The decrease in granulocytes was 3 days after injection of cyclophosphamide (35.45 ± 8.55) %, i.e. by 1.68 times (Table 1).

A certain increase in monocytes was observed on the first day after the injection of cyclophosphamide, which can be explained by the mass death of cells and an increase in the functional load. The indicator of intact animals (6.0 ± 0.7) % on the 1st day after the administration of cyclophosphamide became (7.05 ± 4.6)%, but on the third day after injection it fell to (18.9 ± 0.0)%, i.e. 10 times of the control value ($p \leq 0.01$) (Table 1).

There were no significant changes in the leukocyte cell populations in red blood cells. Some fluctuations in erythrocyte cells from $7.5 \pm 1.4 \cdot 10^{12}/L$ of blood with a decrease on the 1st day to (4.71 ± 1.37) $\cdot 10^{12}/L$ by 1.38 times and further decrease to (3.80 ± 0.27) $\cdot 10^{12}/L$ on the third day after the injection of cyclophosphamide. Also, the trend in the fluctuations of the indicators on the first day and the third day after the injection of sodium cyclophosphamide was observed in the values of hemoglobin, hematocrit, the average volume of erythrocytes, the average hemoglobin content in erythrocyte cells, and the latitude of the distribution of erythrocytes. Decrease in indices was observed on the 1st day by 1,2-1,6 times. Significant changes were registered in platelet counts, which naturally affected the values of thrombocrit, the average platelet count and the breadth of platelet distribution. Already on the first day after the injection of sodium cyclophosphamide, platelet levels fell to (345.0 ± 126.0) $\cdot 10^9/L$ blood, when the value of intact animals (660.0 ± 122.0) $\cdot 10^9/L$ of blood, i.e. by 1.91 ($p \leq 0.05$) times. By the 3rd day after injection, the platelet count decreased to (74.5 ± 39.5) $\cdot 10^9/L$ of blood from the baseline value of $660.0 \pm 122.0 \cdot 10^9/L$ of blood, i.e. by 8.85 times ($p \leq 0.01$) (Table 1). This indicator is considered critical and is characterized by spontaneous intracavitary hemorrhage and other hemophilic disorders.

Thus, it can be concluded that cyclophosphamide caused myelosuppression and the most sensitive cells were leukocyte cells and platelets. Among the leukocyte cells, first were killed lymphocytes, granulocytes and then monocytes. Further mielodepressive syndrome on the background, the animals were injected with azoheterocyclic compounds with code «BIV». BIV-68, BIV-69, BIV-70, BIV-71 compounds were injected. They

stimulated the proliferative activity of bone marrow cell pools and stimulated the release of cells from peripheral lymphomyeloid organs. Among these compounds, the BIV-69 compound exhibited the highest activity. In the group of animals were injected with BIV-69, on the 6th day after the first injection of the compound, the absolute leukocyte count was $(6.51 \pm 0.4) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood, against the control value $(2.79 \pm 0.92) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood, which was 2.33-fold difference ($p \leq 0.05$) (Table 1). According to absolute cellular indicators, the BIV-69 compound was the leader. In this group of animals, the lymphocyte count was $(3.53 \pm 0.12) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood against the control value $(1.55 \pm 0.88) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood, i.e. with an excess of 2.28 times ($p \leq 0.05$). The level of monocytes in absolute value was $(0.32 \pm 0.2) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood against the control value $(0.12 \pm 0.1) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood. The best values were also for granulocyte leukocytes, $(2.65 \pm 0.06) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood against the control value $(1.13 \pm 0.14) \cdot 10^9/\text{L}$, with an increase 2.35 times ($p \leq 0.05$) (Table 1). The remaining relative indicators of granulocytic leukocytes, monocytes directly correlated with absolute values. The maximum values of the absolute indicator of granulocytic leukocytes of the active compound BIV-69 were $(2.65 \pm 0.06) \cdot 10^9/\text{L}$ blood compared to the control value $(1.13 \pm 0.14) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood, exceeded 2.35 times ($p \leq 0.05$). The correlation of the absolute value with the relative blood index was expressed in the granulocyte count $40.8 \pm 0.9\%$ against the control value $(33.35 \pm 9.35)\%$ and against the values in the BIV-69 (29.5 ± 3.1)% and BIV-71 compounds (29.97 ± 1.04)% (Table 1). Also, the values of monocytes in the group which were injected BIV-69 compound made the maximum value in the research groups and amounted to $(0.32 \pm 0.2) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood, BIV-70 compounds $(0.02 \pm 0.0) \cdot 10^9/\text{L}$ blood, BIV-70 compound $(0.16 \pm 0.1) \cdot 10^9/\text{L}$ blood against the control value $(0.12 \pm 0.1) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood. The relative value of monocytes was also maximal in animals injected with BIV-69 compound, amounting to $(4.9 \pm 2.8)\%$ against values in the groups injected with of BIV-68, BIV-70 and BIV-71 compounds as follows: $(2.4 \pm 1.2)\%$, $(0.7 \pm 0.0)\%$ and $(4.03 \pm 3.31)\%$, respectively (Table 1).

BIV-69 compounds also stimulated proliferative activity of red blood cells: erythrocytes and platelets. On the 6th day after the initial injection with BIV-69 compound, the erythrocyte indices was $(6.52 \pm 0.0) \cdot 10^{12}/\text{L}$ of blood, exceeding the reference value $5.67 \pm 2.58 \cdot 10^{12}/\text{L}$ of blood. Indicators in the groups injected with BIV-68, BIV-70, BIV-71 compounds constituting $3.24 \pm 0.03 \cdot 10^{12}/\text{L}$ of

blood, $(4.43 \pm 0.02) \cdot 10^{12}/\text{L}$ of blood and $(4.9 \pm 0.06) \cdot 10^{12}/\text{L}$ of blood respectively. All values in the groups injected with BIV-68, BIV-70, BIV-71 compound were inferior to BIV-69 by 2.01; 1.47; 1.33 times respectively. In the group injected with BIV-69 the hemoglobin content was $(110 \pm 0.5) \text{ g/L}$ of blood, which exceeded the value in the groups injected with BIV-68, BIV-70, BIV-71 by 1.87; 1.35 and 1.21 times, respectively, amounting to $(58.7 \pm 0.4) \text{ g/L}$; $(81.6 \pm 0.5) \text{ g/L}$ and $91.0 \pm 0.7 \text{ g/L}$ of blood (Table 1). A similar pattern was observed for other erythrocyte indices: hematocrit, average volume of erythrocytes, average concentration of hemoglobin in erythrocytic cells and the latitude of distribution of red blood cells. The leading indicators were recorded in the group of animals injected with BIV-69 compound, inferior to the BIV-70, followed by the BIV-71 and the last place was occupied by BIV-68.

Regarding platelets, it can be concluded that the BIV-69 compound stimulated the division of platelets. On the 6th day of observation the platelet count reached $509.0 \pm 1.0 \cdot 10^9/\text{L}$ blood, compared with the control value $447.0 \pm 51.0 \cdot 10^9/\text{L}$ of blood and against the BIV-68, BIV-70, BIV-71 of the following values $(232.3 \pm 3.77) \cdot 10^9/\text{L}$, $(342.0 \pm 34.2) \cdot 10^9/\text{L}$ and $(397.0 \pm 14.3) \cdot 10^9/\text{L}$, respectively (Table 1).

Undoubtedly, the BIV-69 compound is leading in relation to myelostimulating properties.

The next compound was BIV-70. It was inferior to the BIV-69 compound by myelostimulating activity, but it exceeded all other: BIV-68, BIV-70 compounds. The total leukocyte count was $(3.28 \pm 0.03) \cdot 10^9/\text{L}$, which is smaller than the BIV-69 compound 1.98 times, but slightly exceeding the parameters in the BIV-70, BIV-68 compounding groups (Table 1). High absolute and relative values of lymphocyte cells were also recorded. The relative lymphocyte values were $(65.0 \pm 0.33)\%$ with the absolute value $(2.18 \pm 0.13) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood (Table 1). BIV-70 was the leader in the group of compounds among these indicators. With the BIV-68 compound, the outcomes were comparable to each other, but the BIV-70 compound was exceeded by 1.31 times. With respect to absolute values, it was inferior to the BIV-69 compound with a value $(3.53 \pm 0.12) \cdot 10^9/\text{L}$ of blood by 1.62 times. But the relative values in the group of administration of the BIV-71 compound exceeded the BIV-69 values by 1.20 times. The BIV-71 compound stimulated the proliferative activity of the granulocyte pool less efficiently. BIV-71 compound did not perform stimulating the proliferative activity of erythrocytes as efficiently as leukocyte cells. The values of red

blood cells were $(4.9 \pm 0.03) \cdot 10^{12}/L$ against the control values $(5.67 \pm 2.58) \cdot 10^{12}/L$ (Table 1). Also, practically no stimulating activity was observed with respect to platelets. On the 6th day the platelet count was $327.0 \pm 50.0 \cdot 10^9/L$ of blood. The blood values in the groups injected by of BIV-68, BIV-70 at the 6th day after the initial injection of the compounds were only slightly higher than the control values. The leukocyte indices in the BIV-70 and BIV-68 groups were $(3.52 \pm 0.02) \cdot 10^9/L$ and $(3.0 \pm 0.06) \cdot 10^9/L$, i.e. the difference was minimal, within the range $(0.73-0.21) \cdot 10^9/L$. The same minimum difference was in the values between the indications in the experimental groups with the BIV-68 and BIV-

70 compounds and the control value (Table 1). The relative and absolute values of the blood leukogram were practically the same as in the control groups; in respect of erythrocytes and platelets, no significant differences were observed either.

Thus, the BIV-69 compound possessed a high myelostimulating activity against the proliferative activity of lymphomyeloid pools of blood and the stimulation of emissions from secondary lymphomyeloid organs. BIV-71, BIV-68 and BIV-70 were inferior to him. The BIV-68 and BIV-70 compounds did not show myelostimulating effect. The parameters of levamisole did not differ from those of the control group.

Table 1 – Haemogram of blood before and after injection of test compounds

Blood counts	Intact animals	Myelodepression	BIV-68	BIV-69	BIV-70	BIV-71	Levamisole
WBC, $\cdot 10^9/L$	9.1 \pm 2.51	2.68 \pm 0.54	3.0 \pm 0.06	6.51 \pm 0	3.52 \pm 0.02	3.28 \pm 0.03	2.79 \pm 0.92
LYM, $\cdot 10^9/L$	4.9 \pm 1.1	1.22 \pm 0.18	2.04 \pm 0.06	3.53 \pm 0.12	1.67 \pm 0.33	2.13 \pm 0.13	1.54 \pm 0.88
MID, $\cdot 10^9/L$	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.01	0.07 \pm 0.04	0.32 \pm 0.2	0.02 \pm 0.0	0.16 \pm 0.1	0.12 \pm 0.1
GRA, $\cdot 10^9/L$	3.64 \pm 0.9	0.95 \pm 0.36	0.89 \pm 0.04	2.66 \pm 0.06	1.49 \pm 0.02	0.98 \pm 0.04	1.13 \pm 0.13
LY, %	54.0 \pm 0.7	45.65 \pm 8.6	68.1 \pm 0.8	54.3 \pm 1.8	56.9 \pm 0.4	65.0 \pm 3.3	50.65 \pm 14.6
MI, %	6.0 \pm 0.7	18.9 \pm 0.7	2.4 \pm 1.2	4.9 \pm 2.8	0.7 \pm 0	5.03 \pm 3.31	6.0 \pm 5.3
GR, %	40.0 \pm 1.4	35.45 \pm 8.6	29.5 \pm 3.1	40.8 \pm 0.9	42.4 \pm 0.36	29.97 \pm 1.0	43.35 \pm 9.35
RBC, $\cdot 10^{12}/L$	7.5 \pm 1.2	3.80 \pm 0.27	3.24 \pm 0.03	6.52 \pm 0	4.43 \pm 0.02	4.9 \pm 0.06	5.67 \pm 2.58
HGB, g/L	160.7 \pm 1.9	107.0 \pm 4.0	58.7 \pm 0.4	110.0 \pm 0.0	81.6 \pm 0.5	91.8 \pm 0.7	96.9 \pm 1
HCT	39.8 \pm 1.5	30.85 \pm 0.9	17.5 \pm 0.2	33.3 \pm 0.6	24.3 \pm 0.12	27.9 \pm 0.44	28.10 \pm 0.84
MCV	55.0 \pm 1.3	53 \pm 1	54.3 \pm 0.4	50.6 \pm 0.9	55.0 \pm 0.0	57.0 \pm 0.0	50.0 \pm 0.0
MCH	19.0 \pm 3.6	18.45 \pm 0.2	18.0 \pm 0.36	16.9 \pm 0	18.4 \pm 0.1	18.7 \pm 0.3	17.0 \pm 0.3
MCHC	350.6 \pm 2.8	346.5 \pm 2.5	333.0 \pm 6.7	331.0 \pm 3.7	336.0 \pm 2.0	327.0 \pm 5.0	342.5 \pm 6.5
RDWC	14.0 \pm 0.8	13.85 \pm 0.1	13.8 \pm 0.27	13.9 \pm 0.1	13.5 \pm 0.0	14.0 \pm 0.0	13.55 \pm 0.25
PLT, $\cdot 10^9/L$	660.0 \pm 122	74.5 \pm 39.5	232.3 \pm 3.77	509.0 \pm 1.0	342.0 \pm 34.2	367.0 \pm 14.3	447.0 \pm 51.0
PCT, g/L	0.44 \pm 0.021	0.05 \pm 0.07	0.15 \pm 0.0	0.34 \pm 0.0	0.21 \pm 0.03	0.226 \pm 0.0	0.315 \pm 0.04
MPV	7.9 \pm 0.8	6.9 \pm 0.15	6.5 \pm 0.13	6.7 \pm 0	6.2 \pm 0.03	6.2 \pm 0.07	7.1 \pm 0
PDWC	46.0 \pm 0.8	29.5 \pm 29.5	30.9 \pm 0.6	31.4 \pm 0.4	29.5 \pm 0.5	29.6 \pm 0.4	32.35 \pm 0.65

The results from the bone marrow were confirmed by blood hemogram data. A single intraperitoneal injection of cyclophosphamide at a dose of 160 mg/kg led to the development of suppression of bone marrow hematopoiesis. There was a sharp decrease in erythrocyte pool

(by the 14th day of observation), monocytic pool (by 28th day of observation) and lymphocyte pool. Cyclophosphamide showed a pronounced cytostatic effect to the lymphocyte cells, the control group did not reach the levels of intact animals until the end of the experiment, and on

the 28th day of observation it was $(2.0 \pm 0.002) \cdot 10^6$, which is 2 times less than level of intact animals. The non-stimulated mitotic activity of the monocyte germ was more active, and on the 6th day of observation the control group index was $(12.2 \pm 0.02) \cdot 10^6$ vs. $(5.2 \pm 0.02) \cdot 10^6$ of the 2-day observation. The neutrophil indicator significantly faster recovered and on the 4th day of observation the parameters of the control group approached the levels of intact animals. Erythrocyte pool of the control group reached the level of intact animals only on the 28-35th day of observation.

The three-days injections of BIV-69, BIV-70, BIV-71 at a dose of 5 mg/kg caused a significant

increase (compared to the control group) of NCs starting from the 1st day of injections.

After injection of compounds the lymphocyte index was $(0.5 \pm 0.001) \cdot 10^6$, by 7.8 times lower than intact animals (Figure 2, A). But on the 28th day of observation (the 25th day after the injection of the compound), the highest index was observed for the BIV-69 compound, amounting to $(6.2 \pm 0.03) \cdot 10^6$ vs. $(2.0 \pm 0.02) \cdot 10^6$ in the control ($p \leq 0.05$), exceeding the control by 3.1 times; placebo by 2.58 times and even the index of intact animals by 1.55 times. The BIV-70 and BIV-71 compounds activity were inferior to the BIV-69 compound, but exceeded the activity of the reference drug by 1.55 and 1.65 times, respectively.

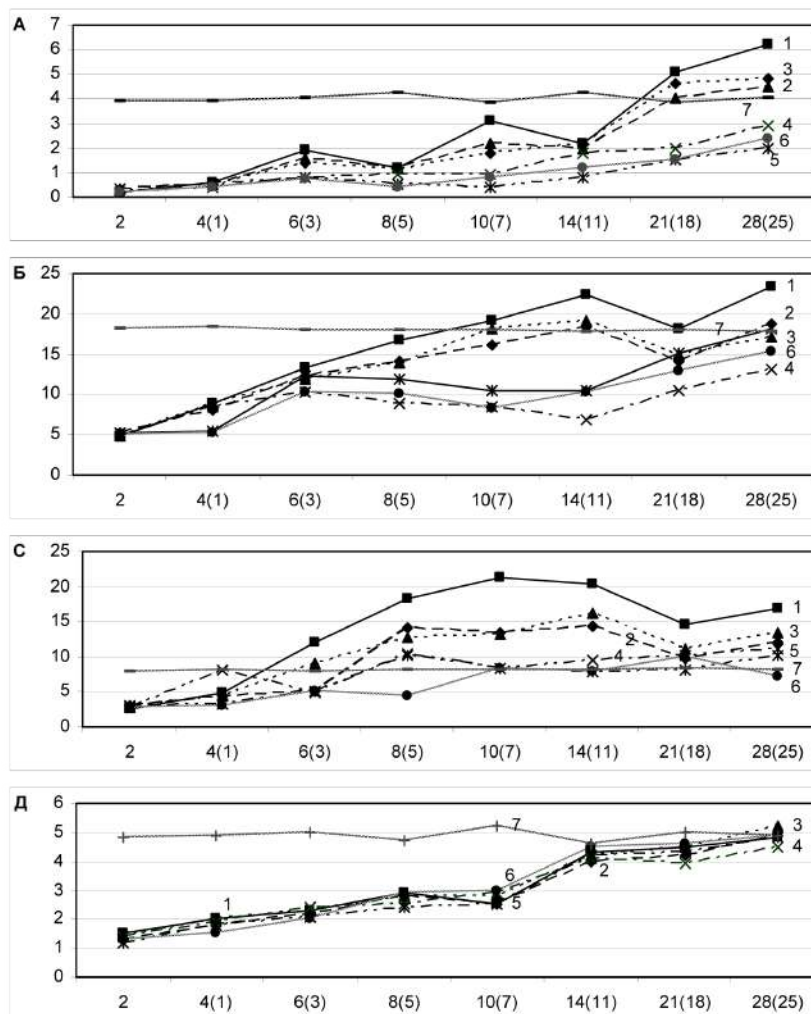


Figure 2 – Myelogram of lymphocytes (A), monocytes (B), neutrophilic leukocytes (C) and erythroid cells (D) in the bone marrow of mice after injection of BIV-69 compound against cyclophosphamide (1), after injection of BIV-70 compound against the cyclophosphamide in background (2), after injection of BIV-71 against cyclophosphamide (3), after injection of levamisole against cyclophosphamide (4), control group (5), after placebo injection against cyclophosphamide (6), intact animals (7).

On the axes of abscissa – time (day), in parentheses – the day after the injection of the compounds; on the ordinate axes – the number of cells ($\cdot 10^6$) per thigh.

Significantly different results were recorded in the recovery pool of monocytic cells. During the 28-day observation there was intensive recovery, and on the 28th day of observation in the treatment group with the BIV-69 compound it was $(23.4 \pm 0.05) \cdot 10^6$ vs. $(18.2 \pm 0.06) \cdot 10^6$ for control group ($p \leq 0.05$), exceeding by 1.29 times. In addition, it significantly exceeded levels of levamisole and even the rate of intact animals by 1.77 and 1.32 times respectively. The BIV-70 and BIV-71 compounds were also inferior to the BIV-69 compound by 1.24 and 1.36 times respectively, but exceeded levamisole results (Figure 2, B).

Also, significantly different results were observed for neutrophil indicators. On the 10th day of observation (the 7th day after the injection of the drug), the results of the BIV-69 compound showed high results $(21.3 \pm 0.07) \cdot 10^6$ vs. $(8.4 \pm 0.01) \cdot 10^6$ of control group ($p \leq 0.05$), exceeding the parameters of the control group, placebo and levamisole by 2.54 times (Figure 2, C). The stimulated mitotic activity of BIV-70 and BIV-71 compounds were significantly inferior to BIV-69

compound, but exceeded the levamisole by 1.6 times.

Cyclophosphamide had a pronounced myelosuppressive effect on the proliferation of erythrocyte cells. A slow recovery of erythropoiesis proceeded in all the observation groups, and only on the 14th day of observation (11th day after the injection of the compounds) approached the levels of intact animals. There were practically no differences in the indices of the placebo, levamisole and control groups. The mitotic pool of erythrocyte cells was equal to that of intact animals only on the 28th day of observation.

Thus, the BIV-69 compound possessed a high myelostimulating activity against the proliferative activity of lymphomyeloid pools of blood and stimulation of emissions from secondary lymphomyeloid organs against cyclophosphamide myelosuppression. The BIV-71, BIV-68 and BIV-70 were inferior to BIV-69. The BIV-68 and BIV-70 compounds did not differ in myelostimulating action. The parameters of levamisole did not differ from those of the control group.

References

- 1 Aziz T., Ali L., Ansari T., Liaquat H.B., Shah S., and J. Ara. "Pancytopenia: megaloblastic anemia is still the commonest cause." *Pak J Med Sci.* 26 (2010):132–136.
- 2 Bhatnagar S.K., Chandra J., Narayan S., Sharma S., Singh V., and A.K. Dutta. Pancytopenia in children: etiological profile. *J Trop Pediatr.* 51 (2005):236–239.
- 3 Bone marrow examination: indication, technique In: Anesoft, Foucar K., editors. *Bone marrow pathology.* Hong Kong: American Society Clinical Pathology; 2001:30–47.
- 4 Chan J.C., Liu H.S., Kho B.C., Chu R.W., Ma E.S., and K.M. Ma. Megaloblastic anemia in Chinese patients: a review of 52 cases. *Hong Kong Med J.* 4 (1998):269–274.
- 5 Chang K.L., Gaal K.K., Huang Q., and L.M. Weiss. Histiocytic lesions involving the bone marrow. *Semin Diagn Pathol.* 20 (2003):226–236.
- 6 Clarke R., J. Grimley Evans, Schneede J., Nexo E., Bates C., and A. Fletcher. Vitamin B12 and folate deficiency in later life. *Age Ageing.* 33 (2004):34–41.
- 7 Iqbal W., Hassan K., Ikram N., and S. Nur. Aetiological Breakup in 208 Cases of Pancytopenia. *J Rawal Med Coll.* 5 (2001):7–10.
- 8 Ishtiaq O., Baqai H.Z., Anwer F., and N. Hussain. Patterns of pancytopenia patients in a general medical ward and a proposed diagnostic approach. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 16 (2004):8–13.
- 9 Jha A., Sayami G., Adhikari R.C., Panta A.D., and R. Jha. Bone marrow examination in cases of pancytopenia. *J Nepal Med Assoc.* 47 (2008):12–17.
- 10 Jha A., Sayami G., Adhikari R.C., Panta A.D., and R. Jha. Bone marrow examination in cases of pancytopenia. *JNMA J Nepal Med Assoc.* 47 (2008):12–17.
- 11 Khanduri U., and A. Sharma. Megaloblastic anaemia: prevalence and causative factors. *Natl Med J India.* 20 (2007):172–5.
- 12 Khunger J.M., Arulselvi S., Sharma U., Ranga S., and V.H. Talib. Pancytopenia a clinicohaematological study of 200 cases. *Indian J Pathol Microbiol.* 45 (2002):375–379.
- 13 Kirpal D.M., Bharat K.M., Shafique A., Suneel K., Sangeeta K., and Vikash The common causes leading to pancytopenia in patients presenting to tertiary care hospital *Pak J Med Sci.* 29(5) (2013): 1108–1111. PMID: PMC3858928
- 14 Kumar P.V., Monabati A., Kadivar R., and H. Soleimanpour. Peripheral blood and marrow findings in disseminated bacille-Calmette-Guerin infection. *J Pediatr Hematol Oncol.* 27 (2005):97–99.
- 15 Kumar R., Kalra S.P., Kumar H., Anand A.C., and H. Madan. Pancytopenia a six year study. *J Assoc Physicians India.* 49 (2001):1078–1081.
- 16 Langosch J.M., Drieling T., Biedermann N.C., Born C., Sasse J., Bauer H., Walden J., Bauer M., and H. Grunze Efficacy of quetiapine monotherapy in rapid-cycling bipolar disorder in comparison with sodium valproate. *J Clin Psychopharmacol.* 28(5) (2008):555-60. DOI: 10.1097/JCP.0b013e318185e75f.

- 17 Magill A.J., Grögl M., Gasser R.A. Jr., Sun W., and C.N. Oster. Visceral infection caused by *Leishmaniatropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N Engl J Med.* 328 (1993):1383–1387.
- 18 Mashkovsky M.D. (1986) *Drugs (Lekarstvenye veshstva)* Moscow, Medicine, vol. 2, p. 169-170. (In Russian)
- 19 Modood-ul-Mannan, Anwar M., Saleem M., Wiqar A., and M. Ahmad. A study of serum vitamin B12 and folate levels in patients of megaloblastic anemia in northern Pakistan. *J Pak Med Assoc.* 45 (1995):187–188.
- 20 Mohanty S.K., and S. Dash. Bone marrow metastasis in solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol.* 46 (2003):613–616.
- 21 Nanda A., Basu S., and N. Marwaha. Bone marrow trephine biopsy as an adjunct to bone marrow aspiration. *J Assoc Physicians India.* 50 (2002):893–895.
- 22 Order of the Minister of health of the Republic of Kazakhstan dated November 19, 2009 № 745 “On approval Of the rules of preclinical (non-clinical) research of biologically active substances». (In Russian)
- 23 Qazi R.A., and A. Masood. Diagnostic evaluation of Pancytopenia. *J Rawal Med Coll* 6 (2002):30–33.
- 24 Praliev K.D., Iskakova T.K., Baktybaeva L.K., and A.E. Malmakova Synthesis and myelostimulatory activity of a number of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49, № 5 (2015):69-72 DOI 10.1007/s11094-015-1272-2
- 25 Rahman A., Mican L.M., Fischer C., and A.H. Campbell Evaluating the incidence of leukopenia and neutropenia with valproate, quetiapine, or the combination in children and adolescents. *Ann Pharmacother.* 43(5) (2009):822-30. DOI: 10.1345/aph.1L617.
- 26 Santra G., and B.K. Das. A cross-sectional study of the clinical profile and aetiological spectrum of pancytopenia in a tertiary care centre. *Singapore Med J.* 51 (2010):806–812.
- 27 Shimamura A., and B.P. Alter. Inherited aplastic anemia syndrome. In: Greer J.P., Foerster J., Rodgers G.M., Paraskevas F., B. Gladet, D.A. Arber. *Wintrobe’s clinical hematology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; (2008). pp. 1173–11261.
- 28 Sipahi T., Tavit B., and A. Oksal. Visceral leishmaniasis and pseudomonas septicemia associated with hemophagocytic syndrome and myelodysplasia in a Turkish child. *Turk J Pediatr.* 47 (2005):191–194.
- 29 Stéphan J.L., Koné-Paut I., Galambrun C., Mouy R., Bader-Meunier B., and A.M. Prieur. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)* 40 (2001):1285–1292.
- 30 Varma N., and S. Dash. A reappraisal of underlying pathology in adult patients presenting with pancytopenia. *Trop Geogr Med.* 44 (1992):322–327.

Литература

- 1 Машковский М. Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 1986. – Т. 2. – С. 169-170.
- 2 Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 19 ноября 2009 года № 745 «Об утверждении Правил проведения доклинических (неклинических) исследований биологически активных веществ».
- 3 Aziz T., Ali L., Ansari T., Liaquat H.B., Shah S., and J. Ara. “Pancytopenia: megaloblastic anemia is still the commonest cause.” *Pak J Med Sci.* 26 (2010):132–136.
- 4 Bhatnagar S.K., Chandra J., Narayan S., Sharma S., Singh V., and A.K. Dutta. Pancytopenia in children: etiological profile. *J Trop Pediatr.* 51 (2005):236–239.
- 5 Bone marrow examination: indication, technique In: Anesoft, Foucar K, editors. *Bone marrow pathology.* Hong Kong: American Society Clinical Pathology; 2001:30–47.
- 6 Chan J.C., Liu H.S., Kho B.C., Chu R.W., Ma E.S., and K.M. Ma. Megaloblastic anemia in Chinese patients: a review of 52 cases. *Hong Kong Med J.* 4 (1998):269–274.
- 7 Chang K.L., Gaal K.K., Huang Q., and L.M. Weiss. Histiocytic lesions involving the bone marrow. *Semin Diagn Pathol.* 20 (2003):226–236.
- 8 Clarke R., J. Grimley Evans, Schneede J., Nexo E., Bates C., and A. Fletcher. Vitamin B12 and folate deficiency in later life. *Age Ageing.* 33 (2004):34–41.
- 9 Iqbal W., Hassan K., Ikram N., and S. Nur. Aetiological Breakup in 208 Cases of Pancytopenia. *J Rawal Med Coll.* 5 (2001):7–10.
- 10 Ishtiaq O., Baqai H.Z., Anwer F., and N. Hussain. Patterns of pancytopenia patients in a general medical ward and a proposed diagnostic approach. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 16 (2004):8–13.
- 11 Jha A., Sayami G., Adhikari R.C., Panta A.D., and R. Jha. Bone marrow examination in cases of pancytopenia. *J Nepal Med Assoc.* 47 (2008):12–17.
- 12 Jha A., Sayami G., Adhikari R.C., Panta A.D., and R. Jha. Bone marrow examination in cases of pancytopenia. *JNMA J Nepal Med Assoc.* 47 (2008):12–17.
- 13 Khanduri U., and A. Sharma. Megaloblastic anaemia: prevalence and causative factors. *Natl Med J India.* 20 (2007):172–5.
- 14 Khunger J.M., Arulselvi S., Sharma U., Ranga S., and V.H. Talib. Pancytopenia a clinicohaematological study of 200 cases. *Indian J Pathol Microbiol.* 45 (2002):375–379.
- 15 Kirpal D.M., Bharat K.M., Shafique A., Suneel K., Sangeeta K., and Vikash The common causes leading to pancytopenia in patients presenting to tertiary care hospital *Pak J Med Sci.* 29(5) (2013): 1108–1111. PMID: PMC3858928
- 16 Kumar P.V., Monabati A., Kadivar R., and H. Soleimanpour. Peripheral blood and marrow findings in disseminated bacille-Calmette-Guerin infection. *J Pediatr Hematol Oncol.* 27 (2005):97–99.
- 17 Kumar R., Kalra S.P., Kumar H., Anand A.C., and H. Madan. Pancytopenia a six year study. *J Assoc Physicians India.* 49 (2001):1078–1081.

- 18 Langosch J.M., Drieling T., Biedermann N.C., Born C., Sasse J., Bauer H., Walden J., Bauer M., and H. Grunze Efficacy of quetiapine monotherapy in rapid-cycling bipolar disorder in comparison with sodium valproate. *J Clin Psychopharmacol.* 28(5) (2008):555-60. DOI: 10.1097/JCP.0b013e318185e75f.
- 19 Magill A.J., Grögl M., Gasser R.A. Jr., Sun W., and C.N. Oster. Visceral infection caused by *Leishmaniatropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N Engl J Med.* 328 (1993):1383–1387.
- 20 Modood-ul-Mannan, Anwar M., Saleem M., Wiqar A., and M. Ahmad. A study of serum vitamin B12 and folate levels in patients of megaloblastic anemia in northern Pakistan. *J Pak Med Assoc.* 45 (1995):187–188.
- 21 Mohanty S.K., and S. Dash. Bone marrow metastasis in solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol.* 46 (2003):613–616.
- 22 Nanda A., Basu S., and N. Marwaha. Bone marrow trephine biopsy as an adjunct to bone marrow aspiration. *J Assoc Physicians India.* 50 (2002):893–895.
- 23 Praliev K.D., Iskakova T.K., Baktybaeva L.K., and A.E. Malmakova Synthesis and myelostimulatory activity of a number of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal,* 49, № 5 (2015):69-72 DOI 10.1007/s11094-015-1272-2
- 24 Qazi R.A., and A. Masood. Diagnostic evaluation of Pancytopenia. *J Rawal Med Coll* 6 (2002):30–33.
- 25 Rahman A., Mican L.M., Fischer C., and A.H. Campbell Evaluating the incidence of leukopenia and neutropenia with valproate, quetiapine, or the combination in children and adolescents. *Ann Pharmacother.* 43(5) (2009):822-30. DOI: 10.1345/aph.1L617.
- 26 Santra G., and B.K. Das. A cross-sectional study of the clinical profile and aetiological spectrum of pancytopenia in a tertiary care centre. *Singapore Med J.* 51 (2010):806–812.
- 27 Shimamura A., and B.P. Alter. Inherited aplastic anemia syndrome. In: Greer J.P., Foerster J., Rodgers G.M., Paraskevas F., B. Gladet, D.A. Arber. *Wintrobe's clinical hematology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; (2008). pp. 1173–11261.
- 28 Sipahi T., Tavil B., and A. Oksal. Visceral leishmaniasis and pseudomonas septicemia associated with hemophagocytic syndrome and myelodysplasia in a Turkish child. *Turk J Pediatr.* 47 (2005):191–194.
- 29 Stéphane J.L., Koné-Paut I., Galambrun C., Mouy R., Bader-Meunier B., and A.M. Prieur. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology (Oxford)* 40 (2001):1285–1292.
- 30 Varma N., and S. Dash. A reappraisal of underlying pathology in adult patients presenting with pancytopenia. *Trop Geogr Med.* 44 (1992):322–327.

Pavlichenko L.M.¹, Rysmagambetova A.A.², Rodrigo Ilarri J.³

¹Doctor of geographic sciences, professor of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: Lmp170946@yandex.ru

²PhD student of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: Rysmagambetova1@gmail.com

³PhD, professor of ²Polytechnic University of Valencia, Spain, Valencia, e-mail: jrodrigoilarri@gmail.com

THE APPLICABILITY ASSESSMENT OF TECHNICAL SOLUTIONS FOR A FEASIBILITY STUDY ON THE PURIFICATION OF GROUNDWATER IN THE ILEK RIVER VALLEY FROM BORON FOR THE MODERN HYDROGEOCHEMICAL SITUATION

This scientific article is devoted to the problem of pollution of the Aktobe basin with boron by the waters of the Ilel River, which drains contaminated groundwater. In connection with not full implementation of the decisions taken to reduce the concentration of pollutants, in particular boron, the problem of groundwater pollution is exacerbated. The monitoring data fix the increased level of pollution. Initiative field studies and the results of the determination of sampling samples showed an excess of threshold limit value of boron both in the zone of the old sludge accumulator and in the Aktobe basin. To justify the need to develop and implement a qualitatively new approach to the solution of the problem of groundwater contamination in the Ilel river valley and the Aktobe Basin, boron made estimates for the topographic and hydrogeological, combined with the technical solutions, the feasibility study, maps. It is shown that now the front of groundwater pollution from the industrial site and the new sludge collector has approached the river, and therefore the technical solution of the feasibility study for the second section no longer corresponds to reality. The dynamics of the pollution processes of the Ilel River in the old sludge accumulator zone is analyzed. Based on the regression model, a forecast is made of the changes in boron content in the right bank of the Ilel River. It is shown that the technical feasibility study on the first site requires a revision.

As a new approach to solving the problem, it is proposed to develop a system from a constantly operating model of geo-filtration and a model of turbulent macro diffusion combined with it. Mapping izoconcentrate of boron and other pollutants of groundwater will provide an opportunity to consider them from the standpoint of alternative environmental technologies, for example, as the basis of boron fertilizers.

Key words: ground water, pollution, boron, basin, feasibility study.

Павличенко Л.М.¹, Рысмагамбетова А.А.², Родриго Иларри Х.³

¹география ғылымдарының докторы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің профессор м.а., Қазақстан, Алматы қ., e-mail: Lmp170946@yandex.ru

²әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің PhD докторанты, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: Rysmagambetova1@gmail.com

³PhD, Политехникалық университетінің профессоры, Испания, Валенсия қ., e-mail: jrodrigoilarri@gmail.com

Қазіргі Елек өзен алқабының жер асты суларының гидрогеохимиялық жағдайы үшін бордан ластануынан техникалық-экономикалық негіздеудің техникалық шешімдерінің қолайлығын бағалау

Берілген ғылыми мақала ластанған жер асты суларына жинақталатын Елек өзен суларымен Ақтөбе су қоймасының бормен ластану мәселесіне арналған. Ластаушы заттардың, соның ішін-

де бордың, концентрациясын төмендету бойынша қабылданатын шешімдердің толық жүзеге асыралмағанынан, жер асты суларының ластану мәселесі екпінделуде. Бақылау ақпараттары ластанудың жоғарғы деңгейін белгілеуде. Бастамалы далалық зерттеулері және іріктелген үлгердің талдау нәтижелері алғашқы қалдық қойма зонасында, сонымен бірге Ақтөбе су қоймасында да бордың ШРК көрсеткішінен артық екенін көрсетті. Елек өзен алқабының жер асты суларын және Ақтөбе су қоймасын бормен ластану мәселесін шешу мақсатында сапалы, әрі жаңа әрекеттердің дайындалуы және оның жүзеге асырылу қажеттігін негіздеу үшін техникалық-экономикалық негіздеудің техникалық шешімдер сызбасымен қатар топографиялық және гидрогеологиялық карталар негізінде есептеулер жүргізілді. Өндіріс алаңы мен жаңа қалдық қоймасынан жер асты суларының ластану аймағы өзенге жақын келгені көрсетілді, сол себепті екінші алаң үшін техникалық-экономикалық негіздеудің техникалық шешімдері нақты түрде жүзеге асырылмайды. Алғашқы қалдық қоймасының алаңында Елек өзенінің ластану үдерісінің динамикасы талданылды. Регрессиялық модель негізінде Елек өзенінің оң жағалауында бор құрамының өзгеруі болжамдалды. Техникалық-экономикалық негіздеудің техникалық шешімдері бірінші алаң үшін де қайта бақылауды қажет ететін қарастырылды.

Берілген мәселені шешуде жаңа әрекет ретінде үздіксіз әрекеттегі геофльтрациялық және онымен бірге қолданылатын макро диффузияның турбуленттік моделінен құралған жүйесін дайындау ұсынысы берілген. Жер асты суларындағы бордың және басқа да ластанушы заттардың изоконцентраттарын картаға түсіру баламалы табиғат қорғау технологиялардың бағдары, мысалы бор құрамды тыңайтқыштар негізі ретінде қарауға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: жер асты сулар, ластану, бор, су қоймасы, техникалық-экономикалық негіздеу.

Павличенко Л.М.¹, Рысмагамбетова А.А.², Родриго Иларри Х.³

¹доктор географических наук, и.о. профессора Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: Lmp170946@yandex.ru

²PhD докторант 2 курса по специальности «6D060800-Экология» Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: Rysmagambetova1@gmail.com

³PhD, профессор Политехнического университета Валенсии, Испания, г. Валенсия, e-mail: jrodrigoillarri@gmail.com

Оценка применимости технических решений технико-экономического обоснования по очистке подземных вод долины реки Илек от бора для современной гидрогеохимической обстановки

Данная научная статья отведена проблеме загрязнения Актюбинского водохранилища бором водами реки Илек, которая дренирует загрязненные подземные воды. В связи с не полной реализацией принимаемых решений по снижению концентрации загрязняющих веществ, в частности бором, проблема загрязнения подземных вод обостряется. Мониторинговые данные фиксируют повышенный уровень загрязнения. Инициативные полевые исследования и результаты определения выборочных проб показали превышения ПДК бора как в зоне старого шламонакопителя, так и в Актюбинском водохранилище. Для обоснования необходимости разработки и реализации качественно нового подхода к решению проблемы загрязнения подземных вод долины реки Илек и Актюбинского водохранилища бором выполнены ориентировочные расчеты по топографическим и гидрогеологической, совмещенной со схемой технических решений технико-экономическое обоснование, картам. Показано, что сейчас фронт загрязнения подземных вод от промплощадки и нового шламонакопителя приблизился к реке, а потому техническое решение технико-экономического обоснования по второму участку уже не соответствует реальности. Проанализирована динамика процессов загрязнения реки Илек в зоне старого шламонакопителя. На основе регрессионной модели выполнен прогноз изменения содержания бора в правобережье реки Илек. Показано, что и техническое решение технико-экономическое обоснование по первому участку требует пересмотра.

В качестве нового подхода к решению проблемы предлагается разработка системы из постоянно действующей модели геофльтрации и совмещенной с ней модели турбулентной макро-диффузии. Картографирование изоконцентрат бора и других загрязнителей подземных вод обеспечит возможность рассмотрения их с позиций альтернативных природоохранных технологий, например, как основы борсодержащих удобрений.

Ключевые слова: подземные воды, загрязнение, бор, водохранилище, технико-экономическое обоснование.

Introduction

Population growth, development of economic activity, growth of living standards increase water consumption and wastewater volumes with the amount of pollution in them. This situation leads to increasing competition and conflicts between different water users. According to the United Nations (UNDP, 2016: 4-9), globally, more than 2 billion people of different countries live in conditions of extreme water shortage, defined as the ratio of total freshwater consumed to the total volume of renewable freshwater reserves above the threshold of 25 percent (Sustainable Development knowledge Platform, 2015). Therefore, the study of imbalance of ecological systems in the presence of contamination presupposes a detailed knowledge of the pattern of the spread of pollutants in the lakes and water streams (OECD, 2012: 25).

Pollution of groundwater and surface waters by boron in the Ilek river valley and Aktobe basin the sources of water supply in Aktobe region - has an impact on the socio-economic development of the region and the formation of an ecological situation in the territory of the Russian Federation. The Ilek River is trans boundary, it flows into the Ural River and eventually the polluted waters enter the Caspian Sea, to the spawning grounds of sturgeon (Pavlichenko, 2017: 967-974).

In the feasibility study on the purification of contaminated groundwater by boron in the valley of the Ilek River, developed at the Center for Health Protection and Environmental Projecting based on the monitoring of underground waters conducted by LLP «Akpan», technical solutions for the interception of contaminated groundwater have been developed. These decisions were developed in 2008 and reflect the hydro-geodynamic situation for 2005, as monitoring observations were discontinued due to lack of funding (Korchevskij, 2008: 86-132).

Although the feasibility study takes into account the results of the field research conducted by the Center for Health Protection and Environmental Projecting in 2007 and 2008, which made it possible to clarify and expand the list of main sources of pollution, the regulatory deadline for its implementation has exceeded in 2015. The feasibility study revision project in 2015 was reduced to a recalculation of the estimate taking into account new financial indicators. Work on the implementation of technical solutions did not even begin on the pilot site recommended by the state expertise.

Initiative field research by the authors, carried out in July 2017 and showing that the threshold limit

value (TLV) were exceeded both in the old sludge accumulation zone and in the Aktobe basin, which had not been observed before, clearly demonstrate the relevance of the boron pollution problem of the Ilek river and the Aktobe basin.

The purpose of this work is to analyze the hydro geodynamic and hydro geochemical changes in the Ilek river valley in the Alga region (Aktobe) in order to assess the applicability of technical solutions for feasibility studies in modern conditions.

Material and methods of research

The actual data of the annual monitoring by KazHydroMet (Information Bulletin, 2008-2017); the visual observations of the research area; the results of chemical composition research of surface water samples, and cartographic materials were used for the analysis of the current situation. In addition, for more clarify of ecological situation of Aktobe region were applied the materials of the Feasibility Study by the Center for Health Protection and Environmental Projecting, and the Ministry of Environmental Protection of the Republic of Kazakhstan in 2007-2009 period project; report of LLP «Akpan» for 2005.

The study the hydro geochemical situation in the of the Ilek river valley based on the following methods (Krauskopf, 1994: 280-331; Tahoori Sheikhy, 2014: 455):

Comparative geographical analysis of photographic materials for the period of 2008 and 2017;

Approximate calculations of the advance of the groundwater pollution front for the period 2005-2017;

Expert analysis of the role of causes of pollution of groundwater on the right bank of the river;

Regression analysis for predicting the timing of self-purification of groundwater on the right bank of the river (Allan Freeze R., 1979: 28-261).

In the report of LLP «Akpan» for 2005, the old sludge accumulator was allocated as the main source of pollution of the Ilek River and there was a small role of soils contaminated by the emissions of the Aktobe chemical factory (in Alga) as a result of their washing with atmospheric precipitation. At the same time, it was believed that the new sludge accumulator and industrial site do not make a significant contribution to pollution, due to their location in areas with low filtration parameters. This point of view is shown in Figure 1, a hydrogeological map with the allocation of zones of various levels of pollution of the underground waters of the Ilek valley by boron.

However, the results of additional partial testing of the monitoring wells, which conducted in 2007 and 2008, for clarify the nature of the pollution of the Ilek river hexavalent

chromium and boron research allowed clarifying and expanding the list of major sources of groundwater pollution by boron (Korchevskij, 2008: 31-58).

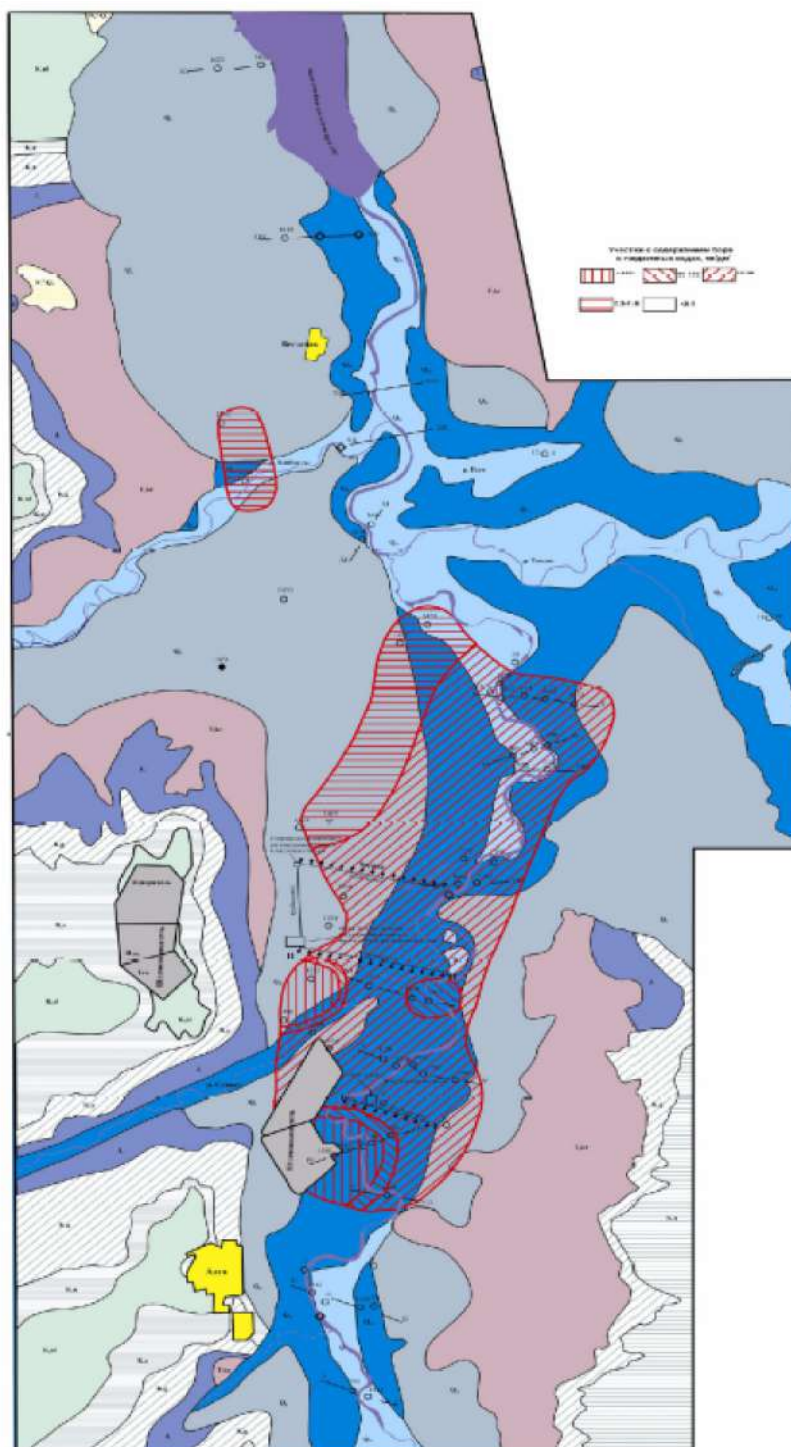


Figure 1 – Hydro geological map of the valley of the Ilek river (LLP «Акпан», 2005) with a Projecting plan for the purification of groundwater from boron (The Center for Health Protection and Environmental Projecting, 2009)

The changes were entered in the scheme for interception of contaminated groundwater (Figure 2) after the analysis of the results of fieldwork in 2008, drilling of wells in the area of old and new sludge accumulators to assess the possibility of filtration through their bottom. In addition, Figure 3 shows the zoning scheme of the underground waters of the valley. This scheme was derived after the construction of a new map of hydro geochemical zoning by GIS methods, taking into account all monitoring wells and without taking into account the assumptions of previous researchers on the existence of a geochemical barrier not confirmed by actual hydrogeological data.

Figure 2 shows the wells of the network and the main infrastructure of the factory – sludge collectors, the territory of the plant and the city of Alga. Unfortunately, this map does not indicate the slurry lines from the plant to the new sludge collector (the old pulp was fed through a metal pipe). The outlines of the city on this map correspond to its current position, while in Figures 1 and 3 these outlines are taken from the old topographical basis. Taking into account the fact (Appelo, 2005: 35-139) that the territory of the industrial site of the factory is now practically next to the city that has grown after the old sludge collector was preserved, Figure 3 clearly reflects the direction of groundwater flows from the industrial site, slurry pipelines and a new sludge accumulator.

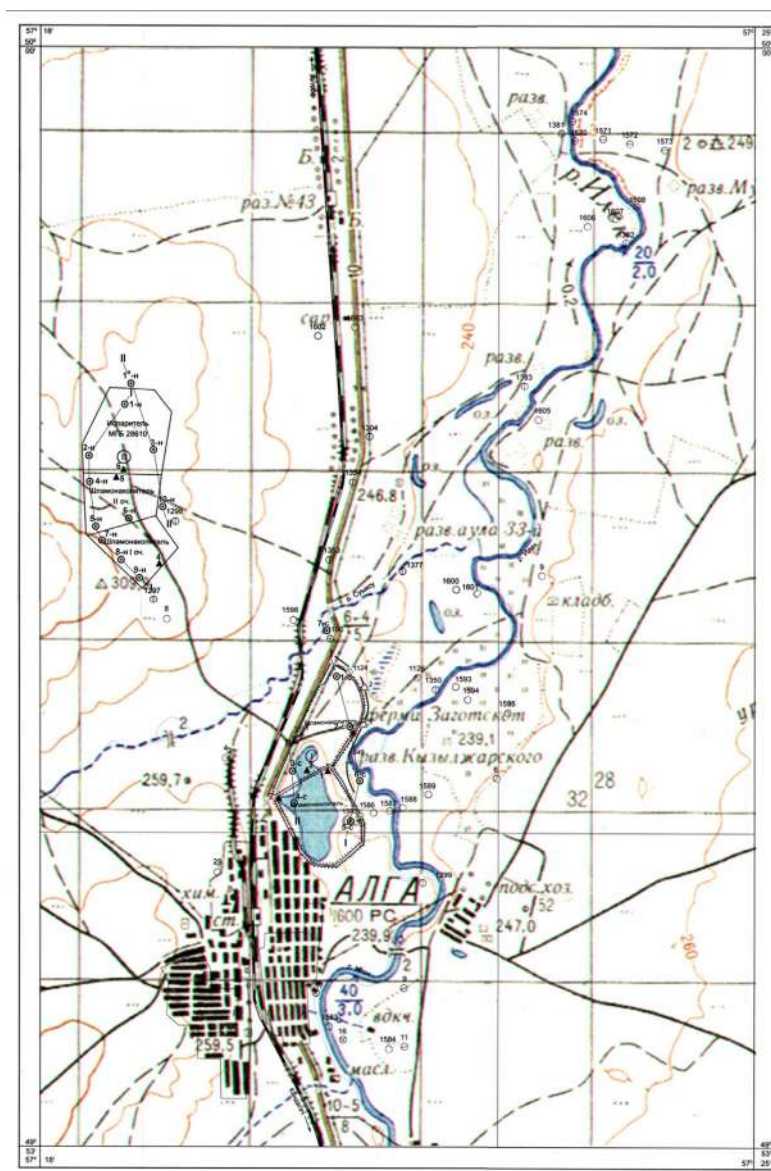


Figure 2 - Map of the actual material of the work area of LLP "Mily sai", 2008.

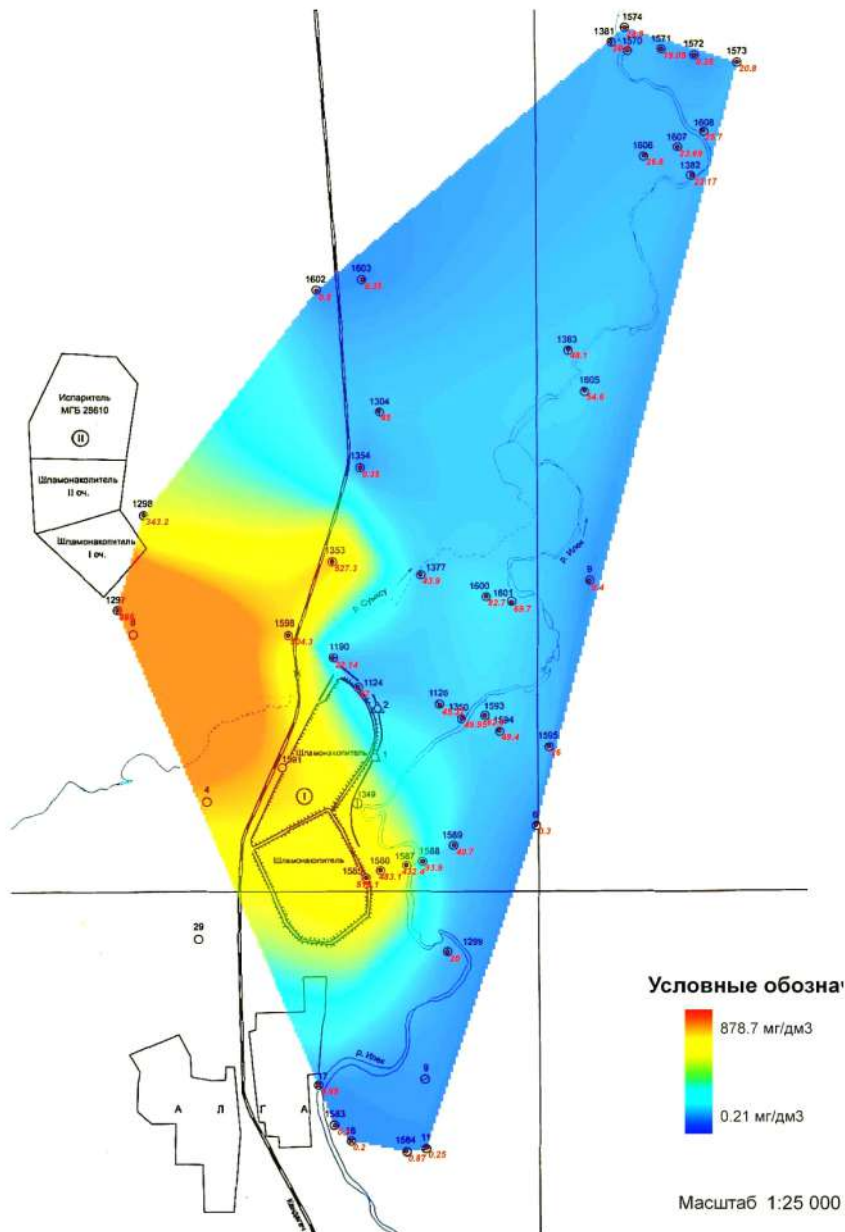


Figure 3 – Scheme of zoning of groundwater in the Ilek valley in 2005.

The report (Yakovleva, 2004: 53-192) provides information on the number of production wastes recorded as of 01.01.2000 - on the industrial site of the former plant: waste of boron production - 647.3 thousand tons, solid and solid waste - 273 thousand tons, cinder - 53 thousand tons, vanadium catalyst - 2.2 thousand tons. It is clear that such the amount of waste that was openly stored on the industrial site after the plant was shut down in 1998 could not but affect the concentrations of groundwater.

The role of slurry pipelines and production wastes in groundwater pollution can be assessed visually from the photo (Figures 4 and 6), and the

process of pyritic cinder utilization is shown in Figure 5.

The main direction of groundwater movement on the left bank of the Ilek River in the area of storage ponds of the Alga Chemical Factory from the southwest to the northeast towards the river. Hydraulic gradients here are 0.0015-0.002, the coefficients of filtration of water-bearing Quaternary sand deposits are 30-35 m/day. A maximum of concentration near the «old» storage pond is associated with this groundwater flow and a maximum spatially located east of the “new” storage pond (Figure 3).



Figure 4 – Pipeline condition with traces of emergency discharges



Figure 5 – Pyrotechnic plant with a pyrite heap dump



Figure 6 – Sacks with brown (marking 1990), stored in the open air

Based on the analysis of the data (Information Bulletin, 2008-2017) of long-term monitoring of boron contamination of groundwater and surface water in the Alga-Aktobe region, and analysis of hydro-geological material and experimental studies, and accounting for project changes in the dynamics of groundwater and surface water:

The main sources of pollution forming a hotbed of groundwater contamination with high boron concentrations are the old sludge accumulator, traces of emergency slurry leakage and the new sludge accumulator (Vengosh, 1994: 1968-1974), the former chemical factory industrial site and soil contaminated with the former chemical factory emissions, dust from the dried surface of the sludge accumulators, places of emergency leakage of the slurry pipeline and settled on the shore silt after spring floods;

The wedging of contaminated groundwater into the Ilek River, where boron is sorbed by silt settling in the Aktobe Basin, creates a high risk of transformation of the Aktobe Basin into a new source of con-

tamination of the infiltration water intakes of the city of Aktobe located below its dam. In the high water years, the processes of wave formation and rising of settled silt are intensified, which can increase the concentration of boron in surface waters and infiltration water intakes below the dam. The Ilek River is the basis for the erosion of the valley, that is, it determines the line of the lowest pressure of the groundwater. In this regard, the spread of boron on the right bank of the Ilek River in the area of the «old» storage pond becomes not entirely clear. If the transfer of boron was carried out only by the flow of groundwater, it could in principle not come here without additional causes, which change the flow hydrodynamics. The method of solving this problem is based on the analysis of the role of the «wall in the ground» by comparing the additional pressures created by the «wall in the ground» and the depth of the groundwater table.

Table 1 presents the results of drilling operations and the pumping of some of the conserved monitoring wells.

Table 1 – Journal of pumping and sampling of water from observation wells of the regime network behind groundwater contamination by boron in the valley of the Ilek river near the Alga region

№№ well	The water level (from the mouth of the column), m	Depth of bottom hole (from the mouth of the column), m	Depth of installation of the pump (from the mouth of the column), m	Debit, dm ³ /s	Sample volume, dm ³	Height of the branch pipe, m
1190	4,16	15,42	15,2	0,1	3,0	0,7
1585	3,19	25,19	25,0	0,6	3,0	1,0
1586	2,05	31,4	18,6	0,3	3,0	0,61
1587	2,46	4,4	4,4	0,1	3,0	0,4
1588	3,47	10,07	10,07	0,4	3,0	0,66
1297	5,38	16,9	16,9	0,1	3,0	0,45
1350	2,25	14,6	14,6	0,3	3,0	0,4
1299	2,43	31,5	31,5	0,7	3,0	0,7

It is established, that in the area of sludge accumulators the river drains intensively underground water contaminated with boron. The consequence of this is the pollution of the river and the Aktobe basin. The main ways of entering boron into groundwater are filtration through the bottom of the old sludge accumulator, infiltration into the aquifer of contaminants washed away by snowmelt waters and storm drain from the sources listed (Herbert Allen E., 1993: 15-285).

Concentrations of boron in groundwater and in aqueous extracts of old and new mud sludge, selected from depths of more than one meter, exceed 1900 mg/dm³. High concentrations of boron are also noted in the soils under the bottom of not only the old but also the new sludge collector. These studies showed a far from complete completion of the

stage of natural washing of sludges and the presence of a large number of active sources of pollution on the left bank of the Ilek River. In the research work (Pavlichenko, 2012: 96-104) the graphs of changes in boron concentrations in wells of section IV-IV demonstrated a short duration of Functions to prevent filtration from the «old» sludge collector. After the beginning of the filtration, bypassing the “wall”, the head is reduced, and the character of the change in boron concentrations in the wells on the right and left banks is clearly manifested. The initial data for the construction of regression dependence for predicting the self-purification of groundwater on the right bank can be the regime during the monitoring period, supplemented with the results of testing in 2008. The actual material for justifying the solutions is presented in Table 2.

Table 2 – The content of boron in groundwater in the zone of the old sludge accumulator in line IV-IV

№ well,	Maximum values in wells by years													
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
1585	387	350	385,1	69,4	84,7	61,5	54,4	267,4	395	290	291	271,3	510,1	143,26
1586	631,3	659	633	61,6	61,6		46,2	62	383	294	302	268,4	483,1	141,3
1587	469	487,7	373	74,9	58	66,6	66,6	273,7	374	292	297	267,3	432,4	137,5
1588	260	216,7	262,1	67,3	57,9		61,5	258,5	244	228	224	137,2	93,9	43,17
1589	34,7	48,6					56,9	276,3	288	247	234	170,6	79,6	45,4

Research results and discussion

Calculation of distances covered by the front of groundwater pollution. In the work (Pavlichenko and others, 2012), the approximate rates of movement of the groundwater contamination front are calculated, calculated from the time of passage of the maximums of boron concentrations in the groundwater between two observation wells. The rate of advance of the lowering of the concentrations (and, consequently, of the pollution front) will be about 300-500 m per year, depending on the slope of the surface. In this case, according to Figures 1 and 3, it could be seen that the distance from the front to the series of drainage wells II-II is approximately 1.4 km. While for 13 years (from 2005 to 2017) the front of pollution can pass a distance of 3.9 to 6.5 km, i.e. The planned drainage strut II-II of 2,100 m in length has already been fully completed in the middle of 2015 ($1.4 + 2.1 = 3.5 \text{ km} > 3.9$ by the end of 2017). Thus, the flow of groundwater of the western direction is already wedged out in the Ilek River, and the technical solution in the feasibility study for Section-2 no longer makes sense.

The reasons for the spread of the source of groundwater pollution to the right bank. In the project on the assignment, the Ministry of Environmental Protection of the Republic of Kazakhstan in 2007-2009 yy, it is indicated that the reasons for boron to enter the right bank may be spills of contaminated groundwater during floods, dust transport of contaminated soil and sludge. However, during the floods, the contaminated groundwater is diluted with snowmobiles, and dust transfer calculations

have shown their insignificant influence, especially since the drilling of ecological and hydro-geological wells in the territories of both old and new sludge accumulators, the sludge in them was practically washed to a depth of 1 m.

Consequently, the only real reason for hitting the boron on the right bank can only be a support from the wall in the ground. The modern hydrodynamics of the old sludge storage system in the ground by 2008, does not accurately reflect the situation when the wall created the maximum backwater from the initial level, the ground waters reached the surface of the sludge accumulator and filtration not only around it began unfinished part, but also through imperfections and gaps in the existing part.

If the Ilek River were a perfect drain, that is, it would intercept the entire capacity of the groundwater aquifer, an increase in pollution after the breakthrough of the “wall” on the right bank would not have been observed. However, on the hydrogeological map of LLP “Akpan”, the focus of pollution was noted on the right bank. Such a situation may indicate the presence of a hydraulic connection between the left and right ground flows, that is, the presence of a creek stream that transmits an increase in absolute marks (a decrease in the depths of groundwater) to the right bank.

In accordance with the topographic (Figure 2), the difference in the absolute marks of the surface in the locations of the wells on the left and right banks does not exceed 2 m (Table 3), and the maximum support from the “wall” was 2.41 m. If there is a pollutant stream with an increased gradient of backwater will move to the right bank.

Table 3 – Calculation of absolute marks of groundwater levels for alignment IV-IV

№, well	Depth of layer		Absolute marks		
	1990 years	2008	Surfaces	Groundwater levels	
				1990	2008
1585	2,41	2,19	241,74	239,33	239,55
1586	1,49	1,44	240,74	239,25	239,3
1587	2,21	2,06	240,05	237,84	237,99
1588	3,37	2,11	239,95	236,58	237,84
1589	1,51		239,86	238,35	239,86

After the beginning of the flow around the «wall», the head was noticeably reduced, but a small decrease in the depth of occurrence is fixed in all the

wells of the observation section IV-IV even 10 years after the beginning of the flow around the «wall» (Table 3).

A visual representation of the character changes in boron concentration in wells of this alignment could be obtained from figure 7.

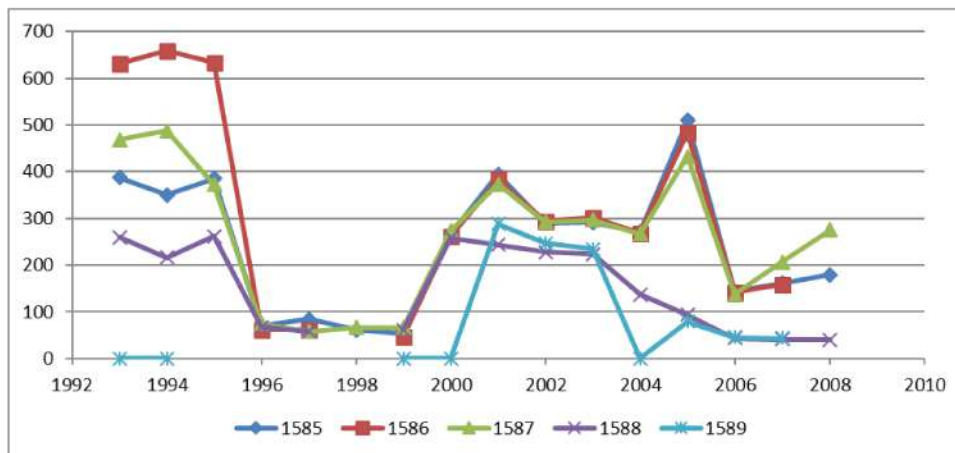


Figure 7 – Dynamics of changes of the boron concentrations in the wells of observation section IV-IV

As can be seen from the figure, after the completion of the “wall in the ground” construction in 1994, the reduction in boron concentrations begins in 2 years in wells 1585-1588. Its “wall” holds its full function in the period 1996-1999, while there is an ecological filtration capacity between the sludge collector and the “wall”, and then the boron concentration sharply increases, but does not reach its initial values.

Further, the fluctuations of the concentrations are determined by the water content of the year, but in all left-bank wells, despite these fluctuations, there is a very slight trend of decreasing boron content, increasing the difference in concentrations, and after 2003. While the impact of backwater was affected (until 1999 for 1588 and 2000 for 1589 wells), the nature of left-bank well curves repeat the curve of the left-bank wells. After 2000 for 1588 wells and after 2003 for 1589 the character of the curves completely changes – for them it is possible to note a clear orientation to a constant decrease in boron concentrations.

Moreover, we can note one more feature of this period - the concentration of boron in 1588 and 1589 wells become practically the same that is now it is the process of drainage of the left-bank flow without the influence of backwater. In addition, this means that it is possible to construct a regression equation for the prediction of reduction of residual amounts of boron in right-bank wells due to washing with atmospheric precipitation and snowmelt waters.

Verification of different variants of the trend equations showed for the well 1588 the maximum value of the curve approximation (0.925) by the fourth-degree polynomial equation.

In this case, the concentration of boron, equal to 0.486 mg/dm^3 , will be reached in 2020. Since the concentration of boron, less TLV, will be achieved in 2-3 years, there is no sense in implementing the construction of seven right-bank wells of the first section of the feasibility study.

After the development of the project, since it was shown above that in the nine years, the second section will not be able to intercept the entire flow of contaminated groundwater from the industrial site of the former factory. The traces of emergency pulp spills when transporting it to the new sludge accumulator and filtering out of it, the feasibility study no longer corresponds modern hydrodynamic environment.

The acute problems of the pollution of the Ilek River and the Aktobe Basin are emphasized by the monitoring data of «KazHydroMet», which fixes the increased level of pollution, and the initiative field studies and the results of determining the samples (GOST, 2014) by authors, conducted in July 2017. The chemical analysis of water samples was carried out at the Hach-Lange LZV 735 analytical laboratory for water analysis based on the DR 1900 spectrophotometer (Manual, 2013). As a result, there is an excess of the threshold limit value of boron (GOST, 1998) in the area of the old sludge

accumulator (7.5 mg/dm^3 - 15 TLV), and in the Aktobe basin (1.2 mg/dm^3 - 2.4 TLV). In addition, on the territory of the Aktobe city, that is a lower excess (0.6 m /dm^3 - 1.2 TLV below the dam).

However, it has always been assumed that boron is precipitated by silt in the Aktobe basin almost completely, in other words within the city the boron concentration should be below the TLV.

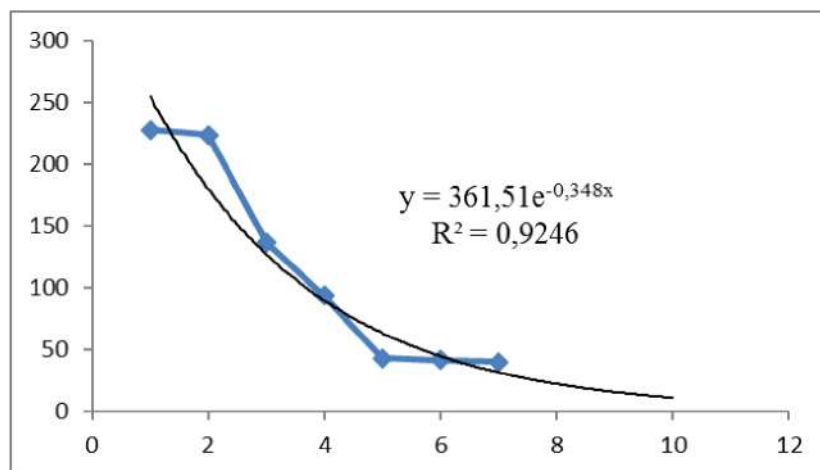


Figure 8 – The exponential approximation of the dynamics of boron concentrations in the well 1588

These excesses are already defined by the new sanitary rules (Legal Information system, 2018), which is now assumed to be 0.5 mg/dm^3 in all cases, although until recently all the rivers used the Fishery Ecology limit equal to 0.017, that is, stricter in 29 times.

An additional indicator of the deterioration of water quality in the Aktobe basin is the results of a social survey of children swimming in the basin. Now, more often after bathing on the skin, rashes and itching appear which determines the obvious signs of boron exposure.

It is known that boron is an essential element for plants; therefore, a large number of species of boron-containing fertilizers are produced (Drahomir, 2015: 5-69). These fertilizers also contain phosphorus, potassium, calcium, sometimes sulfur, and other elements (Grimes, 2012: 11-12). Although monitoring of groundwater before 2005 was conducted only by boron, the studies of the Center for Health Protection and Eco-Projects in 2007-2008, in the part of the samples, a high content of phosphorus, fluorine, nitrates and sulfur anions is established. Since the content of boron above 30 mg/kg of soil also has a negative effect, it will be very important to divide the left bank along the concentrations of boron, phosphorus and other fertilizer components. This will make it possible to analyze the perspectives of using contaminated

groundwater for growing fodder crops and organizing livestock complexes, since boron was not found in meat of animals with high concentrations, and the estimated probabilities of diseases of the population from eating local animals were very low.

To identify areas that are promising for this alternative approach, detailed schemes of the isoconcentrate of groundwater pollutants, which could be used as components of boron fertilizers with which additives are needed, require the construction of a model system.

However, there are many problems along this way. The issue of assessing the pollution of surface waters contaminated by underground refers to a complex and poorly developed field of «interdisciplinary» research. It determines the practical absence of mathematical models that allow for taking into account the pollutant transition from groundwater, where its transfer is subject to hydrogeological laws (the presence of dynamic porosity, changes in the volume of underground runoff, weak or total absence of the influence of atmospheric precipitation), a watercourse or a body of water, where hydrological laws.

That is why the task of assessing the interconnection of surface and groundwater in the part of the transfer of pollution by underground waters and their transfer to water bodies and watercourses is not solved unequally. Migration

of pollution with groundwater is studied and evaluated usually based on geo-filtration and geo-migration models, in other words with a significant spatial and temporal detail of the flows of groundwater carrying pollutants. The area of modeling the dynamics (Rodrigo, 2014) of the quality of surface waters, in view of the large variability of runoff characteristics, is not sufficiently developed.

Conclusion

The problem of pollution of the Aktobe basin with boron waters of the Ilek River, which drains contaminated groundwater, is constantly exacerbated, since none of the decisions taken have been fully implemented. Now the front of

groundwater pollution from the industrial site and the new sludge collector has approached the river, and the formation of the Ilek River near the “old” sludge collector aggravated the situation.

To identify areas that are promising for this alternative approach, detailed schemes of the isoconcentrate of groundwater pollutants, which can with which additives serve as components of boron-containing fertilizers, require the construction of a system from a permanent model of geo-filtration and a model of turbulent macro diffusion combined with it. The development of conditions for combining hydrogeological and hydrological models (Rodrigo Ilarri, 2016) should be carried out using a multidimensional statistical model (component analysis) to identify the interrelationships of surface and groundwater.

References

- 1 «GOST 31862-2012. Drinking water. Sampling. Otbor prob v zavisimosti ot vida provodimogo analiza» [Sampling depending on the type of analysis performed], accessed July 18, 2017. https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31466531
- 2 «GOST 51210-98. Drinking water. Method for determination of boron content», accessed April 5, 2017. <http://docs.cntd.ru/document/1200005902>
- 3 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified December 2010. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 4 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified January 2011. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 5 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified December 2012. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 6 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified December 2013. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 7 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified December 2014. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 8 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified February 2015. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 9 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified January 30, 2016. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 10 «Informacionnyj bjulleten' o sostojanii okruzhajushhej srede Respubliki Kazakhstan» [Information Bulletin on the State of the Environment of the Republic of Kazakhstan]. Last modified January 12, 2017. <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda>
- 11 Adhikary P.P., Dash C.J., Chandrasekharan H, Rajput T.B.S., Debey S.K. Evaluation of groundwater quality for irrigation and drinking using GIS and geostatistics in a per-urban area of Delhi, India. *Arabian Journal of Geoscience* 6 (2012): 1423–1434
- 12 Allan Freeze R., John A. Cherry. *Groundwater*. (New Jersey: 1979, Englewood Cliffs), 28-261
- 13 Appelo C.A.J., Postma D., *Geochemistry, groundwater and pollution*, second edition (New York: Taylor Francis, 2005), 35-139
- 14 Drahomir H., Michael McKee L. *Boron. The Fifth Element*. (Switzerland: Springer International Publishing, 2015), 5-69
- 15 Grimes R.N. *Foreword in Boron Science* (Florida: Boca Raton, 2012), 11-12.
- 16 Hach Company. «Manual of using DR 1900 Portable Spectrophotometer». *Methods/Procedures of determining the boron*. Accessed May 20, 2017. <https://www.hach.com/dr1900-portable-spectrophotometer-with-usb/product-downloads?id=18915675456>
- 17 Herbert Allen E., Michael Perdue E., Brown David S. *Metals in Groundwater (USA: Lewis publishers, 1993)* 15-285
- 18 Korchevskij A.A. and others. *Provedenie nauchno-issledovatel'skih i opytno - jeksperimental'nyh rabot po ochistke podzemnyh vod ot bora v zone, primykajushhej k reke Ilek* [Conducting research and experimental works on the purification of groundwater from boron in the zone adjacent to the Ilek River]. Report of «The Center for Health Protection and Environmental Projecting», 187 (2008): 86-132. (In Russian)
- 19 Korchevskij A.A., Jakovleva N.A., Skljjarova G.L. *Predvaritel'naja ocenka vozdeystvija na okruzhajushhuju sredu k Tehniko-jekonomiceskomu obosnovaniju investicionnogo proekta ochistki podzemnyh vod reki Ilek ot zagrijaznenija borom* [Preliminary Environmental Impact Assessment to the Feasibility Study of the Ilek Water Project for Groundwater Purification from Boron Pollution]. LLP «Center for Health Protection and Environmental Projecting» 185 (2008): 31-58. (In Russian)

- 20 Krauskopf K.B., Bird D.K. Introduction to Geochemistry. McGraw-Hill, 3 (New York, 1994): 352
- 21 Legal Information system of Regulatory Legal Acts of the Republic of Kazakhstan. «The Water Code of the Republic of Kazakhstan». Last modified January 1, 2018. http://adilet.zan.kz/eng/docs/K030000481_
- 22 OECD. Financing Water Supply and Sanitation in Developing Countries: The Contribution of External Aid. OECD, (Paris, 2012): 25
- 23 Pavlichenko L., Rysmagambetova A., Tanybayeva A., Minzhanova G. The degree of boron contamination of the underground and surface water of the Ilek River valley (Paper presented at the 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference on Ecology, Economics, Education and Legislation, VOL 17 Albena, BULGARIA, 29.06.2017-05.07.2017): 967-974.
- 24 Pavlichenko L.M., Skljarova G.L., Aktymbaeva A.S. Ocenka roli osnovnyh istochnikov zagryaznenija borom podzemnyh i poverhnostnyh vod doliny r. Ilek [Assessment of the role of the main sources of boron contamination of groundwater and surface waters in the Ilek River valley]. Bulletin of KazNU. A series of geographic, 34 (2012): 96-104. (In Russian)
- 25 Rodrigo Ilarri J., Max Reisinger, Jaime Gómez-Hernández J. Influence of heterogeneity on heat transport simulations in shallow geothermal systems, (Paper presented at the Conference: Geostatistics for Environmental Applications geoENV2014, Paris, 2014).
- 26 Rodrigo Ilarri J., Rodrigo-Clavero María E. «Groundwater protection of minimal water supply systems integrating simple hydrogeological information». (Paper presented at the European Geosciences Union, Austria, Vienna, April 17-22, 2016).
- 27 Sustainable Development knowledge Platform. «Sustainable Development Goal 6: Ensure access to water and sanitation for all», accessed November 15, 2017. <https://sustainabledevelopment.un.org/sdg6>
- 28 Tahoori Sheikhy N., Mohammad Firuz R., Ahmad Zaharin A., Wan Nor Azmin S., Hafizan J., Kazem F. Identification of the Hydrogeochemical Processes in Groundwater Using Classic Integrated Geochemical Methods and Geostatistical Techniques. The Scientific World Journal, 9 (2014): 455.
- 29 UNDP. Sustainable management of water and sanitation. Why does this matter? UNDP Support to the Implementation of the Sustainable Development Goals (New York: One United Nations Plaza, 2016), 4-9
- 30 Vengosh A., Heumann K. G., Juraske S., Kasher R. Boron Isotope Application for Tracing Sources of Contamination in Groundwater. Environmental Science Technology 28 (1994): 1968–1974
- 31 Yakovleva A.V., Urgenshaeva G.S., Kuchmenko A.A., and others Otchet po jekologicheskomu rajonirovaniyu territorii Aktjubinskoj oblasti i vhodjashhih v nee jekologo-geograficheskikh rajonov [Report on the ecological zoning of the territory of the Aktobe region and its constituent ecological and geographical areas]. Open Joint Stock Company «АКТЮБНИГРИ» 230 (2004): 53-192. (In Russian)

Литература

- 1 ГОСТ 31861-2012. Вода. Общие требования к отбору проб [Электронный ресурс]: URL: https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31466531 (дата обращения: 18.07.2017)
- 2 Корчевский А.А. и др. Проведение научно-исследовательских и опытно - экспериментальных работ по очистке подземных вод от бора в зоне, примыкающей к реке Илек// Отчет ТОО «Центр охраны здоровья и экологического проектирования». – 2008. – С. 86-132.
- 3 Корчевский А.А., Яковлева Н.А., Склярова Г.Л. Предварительная оценка воздействия на окружающую среду к техно-экономическому обоснованию инвестиционного проекта очистки подземных вод реки Илек от загрязнения бором // ТОО «Центр охраны здоровья и экологического проектирования». – 2008. – С. 31-58.
- 4 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 12.2010)
- 5 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 01.2011)
- 6 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 12.2012)
- 7 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 12.2013)
- 8 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 12.2014)
- 9 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 02.2015)
- 10 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 30.01.2016)
- 11 Министерство энергетики Республики Казахстан. РГП «КАЗГИДРОМЕТ». Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды [Электронный ресурс]: URL: <https://kazhydromet.kz/ru/bulleten/okrsreda> (дата обращения: 12.01.2017)
- 12 Павличенко Л.М., Склярова Г.Л., Актымбаева А.С. Оценка роли основных источников загрязнения бором подземных и поверхностных вод долины р. Илек // Вестник КазНУ. Серия географическая. – 2012. – №1. - С. 96-104.
- 13 Яковлева А.В., Ургеншбаева Г.С., Кучменко А.А. и др. Отчет по экологическому районированию территории Актюбинской области и входящих в нее эколого-географических районов//ОАО «АКТЮБНИГРИ» – 2004. – С. 53-192.

- 14 «GOST 51210-98. Drinking water. Method for determination of boron content», accessed April 5, 2017. <http://docs.cntd.ru/document/1200005902>
- 15 Adhikary P.P., Dash C.J., Chandrasekharan H, Rajput T.B.S., Debey S.K. Evaluation of groundwater quality for irrigation and drinking using GIS and geostatistics in a per-urban area of Delhi, India. *Arabian Journal of Geoscience* 6 (2012): 1423–1434
- 16 Allan Freeze R., John A. Cherry. *Groundwater*. (New Jersey: 1979, Englewood Cliffs), 28-261
- 17 Appelo C.A.J., Postma D., *Geochemistry, groundwater and pollution*, second edition (New York: Taylor Francis, 2005), 35-139
- 18 Drahomir H., Michael McKee L. *Boron. The Fifth Element*. (Switzerland: Springer International Publishing, 2015), 5-69
- 19 Grimes R.N. *Foreword in Boron Science* (Florida: Boca Raton, 2012), 11-12.
- 20 Hach Company. «Manual of using DR 1900 Portable Spectrophotometer». *Methods/Procedures of determining the boron*. Accessed May 20, 2017. <https://www.hach.com/dr1900-portable-spectrophotometer-with-usb/product-downloads?id=18915675456>
- 21 Herbert Allen E., Michael Perdue E., Brown David S. *Metals in Groundwater* (USA: Lewis publishers, 1993) 15-285
- 22 Krauskopf K.B., Bird D.K. *Introduction to Geochemistry*. McGraw-Hill, 3 (New York, 1994): 352
- 23 Legal Information system of Regulatory Legal Acts of the Republic of Kazakhstan. «The Water Code of the Republic of Kazakhstan». Last modified January 1, 2018 <http://adilet.zan.kz/eng/docs/K030000481>
- 24 OECD. *Financing Water Supply and Sanitation in Developing Countries: The Contribution of External Aid*. OECD, (Paris, 2012): 25
- 25 Pavlichenko L., Rysmagambetova A., Tanybayeva A., Minzhanova G. The degree of boron contamination of the underground and surface water of the Ilek River valley (Paper presented at the 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference on Ecology, Economics, Education and Legislation, VOL 17 Albena, BULGARIA, 29.06.2017-05.07.2017): 967-974.
- 26 Rodrigo Ilarri J., Max Reisinger, Jaime Gómez-Hernández J. Influence of heterogeneity on heat transport simulations in shallow geothermal systems, (Paper presented at the Conference: Geostatistics for Environmental Applications geoENV2014, Paris, 2014).
- 27 Rodrigo Ilarri J., Rodrigo-Clavero María E. «Groundwater protection of minimal water supply systems integrating simple hydrogeological information». (Paper presented at the European Geosciences Union, Austria, Vienna, April 17-22, 2016).
- 28 Sustainable Development knowledge Platform. «Sustainable Development Goal 6: Ensure access to water and sanitation for all», accessed November 15, 2017. <https://sustainabledevelopment.un.org/sdg6>
- 29 Tahoora Sheikhy N., Mohammad Firuz R., Ahmad Zaharin A., Wan Nor Azmin S., Hafizan J., Kazem F. Identification of the Hydrogeochemical Processes in Groundwater Using Classic Integrated Geochemical Methods and Geostatistical Techniques. *The Scientific World Journal*, 9 (2014): 455.
- 30 UNDP. *Sustainable management of water and sanitation. Why does this matter? UNDP Support to the Implementation of the Sustainable Development Goals* (New York: One United Nations Plaza, 2016), 4-9
- 31 Vengosh A., Heumann K. G., Juraske S., Kasher R. Boron Isotope Application for Tracing Sources of Contamination in Groundwater. *Environmental Science Technology* 28 (1994): 1968–1974

Текебаева Ж.Б.¹, Абжалелов А.Б.²

¹Казахский университет технологии и бизнеса, Казахстан, г. Алматы

²Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, г. Астана,
e-mail: bio_kazutb@mail.ru

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДОРΟΣЛЕЙ-ИНДИКАТОРОВ В ОЦЕНКЕ
ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА**

Изучение и использование водорослей-индикаторов доказывает их важную роль в оценке экологического состояния водных объектов, улучшении экологического состояния окружающей среды. Это позволяет рассматривать микроводоросли как перспективные биоаккумуляторы тяжелых металлов и органических веществ, а также организмы, активно принимающие участие в самоочищении водоемов.

Целью работы являлось изучение роли водорослей-индикаторов в оценке загрязненности водоемов Северного Казахстана.

Изучен систематический состав альгофлоры исследуемых водоемов, что позволило из обнаруженных 205 видов водорослей установить 136 видов-индикаторов. Наибольшее число индикаторов относится к диатомовым – 61,8% и зеленым водорослям – 25% от общего числа видов, что отражает значение этих водорослей в формировании фитопланктона исследуемых пресных водоемов.

В составе фитопланктона преобладают водоросли, относящиеся к мезосапробной зоне загрязнения (III класс чистоты). Индекс сапробности по Пантле-Букку в среднем по всем водоемам составил 1,56 – 2,13, что соответствует умеренной степени загрязнения. Установлено, что по гидрохимическим и гидробиологическим показателям качество воды исследуемых водных объектов Северного Казахстана в настоящий момент относится к 3-му классу – «умеренному уровню загрязнения».

Ключевые слова: водоросли, виды-индикаторы, сапробность, фитопланктон, загрязнение.

Tekebaeva Zh.B.¹, Abzhalelov A.B.²

¹Kazakh University of Technology and Business, Kazakhstan,

²Republican collection of microorganisms, Kazakhstan,
Astana, e-mail: bio_kazutb@mail.ru

**Research of algae-indicators in the assessment of pollution of water bodies
in Northern Kazakhstan**

Studying and use of seaweed-indicators proves their key role in an assessment of an ecological condition of water objects, improvement of an ecological condition of an environment. It allows to consider microseaweed as perspective bioaccumulators of heavy metals and organic substances, as well as the organisms which are actively taking part in autopurification of reservoirs.

Objective of work was studying a role of seaweed-indicators in an assessment of impurity of reservoirs of Northern Kazakhstan.

The regular structure of the algal flora of the investigated reservoirs is studied, allowed from the detected 205 types of seaweed to establish 136 types-indicators. The greatest number of indicators concerns diatoms - 61,8 % and to green seaweed - 25 % from the general number of types that reflects value of this seaweed in formation of phytoplankton in investigated fresh reservoirs.

In structure of phytoplankton the seaweed concerning to the mesosaprobic to a zone of pollution (III class of cleanliness) prevail. The index of saprobity for Pantle-Bucc on the average on all reservoirs has made 1,56 – 2,13, that conforms to the moderate degree of pollution. It is established, that on hy-

drochemical and hydrobiological parameters quality of water of investigated water objects of Northern Kazakhstan at the moment concerns to 3-*my* to a class - to "the moderate level of pollution".

Key words: algae, indicator species, saprobity, phytoplankton, pollution.

Текебаева Ж.Б.¹, Әбжалелов А.Б.²

¹Қазақ технология және бизнес университеті

²Республикалық микроорганизмдер жиынтығы,
Қазақстан, Астана қ., e-mail: bio_kazutb@mail.ru

Солтүстік Қазақстанның судың ластануын бағалаудағы балдырлар көрсеткіштерін зерттеу

Балдырлар су объектілерінің жай-күйін бағалауда және судың сапасын бақылауда индикаторлық ағзалар ретінде кеңінен қолданылады, көптеген түрлердің стенотоптық сипатына және олардың қоршаған орта жағдайына жоғары сезімталдыққа байланысты.

Жұмыстың мақсаты Солтүстік Қазақстандағы су объектілерінің ластануын бағалаудағы алгебралық көрсеткіштердің рөлін зерттеу болды.

Зерттелген су қоймаларының альгофлорасының жүйелі құрамы зерттелді, бұл анықталған 205 балдырлардан алынған индикаторлардың 136 түрін анықтауға мүмкіндік берді. Индикаторлардың ең көп саны диатомаларға жатады – 61,8% және жасыл балдырлар – бұл түрлердің жалпы санының 25%, бұл тұзды су объектілерінде фитопланктонның қалыптасуында осы балдырлардың маңыздылығын көрсетеді.

Құрамында фитопланктон басым балдырлар жататын – мезосапробтік ластану аймағында (III класс тазалық). Пантле-Букк үшін сапробтік көрсеткіші орта есеппен қоршаған ортаны ластау деңгейіне сәйкес келетін барлық су қоймаларында орта есеппен 1,56 – 2,13 құрады. Солтүстік Қазақстандағы зерттелген су объектілерінде судың сапасының гидрохимиялық және гидробиологиялық көрсеткіштері қазіргі уақытта үшінші класты – «қалыпты ластану» жатады. Осылайша, балдырлар көрсеткіштерін зерттеу және пайдалану су объектілерінің ластануын барабар бағалауға мүмкіндік береді, бұл олардың су ортасының экологиялық мониторингінде пайдалануға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: балдырлар, индикаторлардың түрлері, сапробтік, фитопланктон, ластану.

Введение

Одним из информативных показателей антропогенной нагрузки на водные экосистемы является качественный состав гидробионтов, претерпевающий существенные изменения под влиянием загрязняющих веществ. Поступление загрязняющих веществ в водоем, в том числе и тяжелых металлов (Chang, 2014: 6136-6158), вызывает диспропорцию в развитии отдельных видов гидробионтов, рассматриваемых как индикаторы экологического состояния водных объектов, что приводит к нарушению взаимоотношений в экосистеме, вследствие чего происходит замена одних видов другими, более приспособленными к сложившимся условиям (Деревенская, 2015: 44).

Контроль окружающей природной среды по гидробиологическим показателям является высоко приоритетным также с точки зрения обеспечения возможности прямой оценки состояния водных экологических систем, испытывающих вредное влияние антропогенных факторов (Заядан, 2006: 34; Муравьев, 2004: 245).

Водоросли широко используют как индикаторные организмы при экологическом мони-

торинге (Пашкевич, 2002: 88). Физико-химические методы индикации состояния окружающей среды не дают непосредственного ответа на отклик экосистемы на те или иные загрязнения (Ludwing, 2013: 321-339). Поэтому водоросли, благодаря стенотопности многих видов, их высокой чувствительности к условиям окружающей среды, играют важную роль в биологическом анализе воды (Martinez-Tabche, 1995: 93-99). Биологический анализ, наряду с другими методами, используется при оценке состояния водоемов и контроля за качеством воды (Ying, 2006: 417-431; Абакумов, 1997: 57-61).

Микроводоросли – одни из наиболее чувствительных организмов к действию токсических веществ, в том числе и к тяжелым металлам. Такие микроэлементы, как Zn, Cu, Mn, Mo, Fe, Co, B, Se, Br и др., у водорослей принимают активное участие в большинстве жизненных процессов, выступают регуляторами ферментов, а также скорости и направленности метаболических превращений. Вместе с тем, в избыточных концентрациях они оказывают на водоросли токсический эффект (Пчелкин, 2004: 2-19). По разным оценкам за счет связывания клетками микроводорослей из среды удаляется от 20 до

96% тяжелых металлов (Пиментел, 2004: 125).

Один из основных показателей – индекс сапробности, используется для того, чтобы определить органическое загрязнение водоемов. Он характеризует зоны, различающиеся по количеству неразложившегося белка, по наличию или отсутствию кислорода, по наличию или отсутствию сероводорода (Wilhelem, 1990: 293-306).

На основании сведений о видовом составе гидробионтов, найденных в тех или иных водах, можно составить представление о том, насколько последние чисты или загрязнены (Sergeyenko, 2003: 351-357). Поэтому организмы, характерные для зон различного загрязнения, носят название биоиндикаторов степени загрязнения. Индикаторная роль гидробионтов характеризуется не только фактом нахождения или отсутствия их в водоеме, но и степенью количественной представленности (Stoermer, 1999: 469).

На территории Северного Казахстана насчитывается около 11 тысяч озер и рек. Степень загрязненности водоемов данного региона из года в год неуклонно растет, причиной является увеличение антропогенной и техногенной нагрузки на водные источники. Так, в последние годы были зафиксированы случаи высокого загрязнения в реках Есиль (марганцем, сульфатами, азотом нитритным), Акбулак (солевым аммонием), а также в канале Нура-Есиль (марганцем). Жемчужина Казахстана – Щучинско-Боровская курортная зона, в связи с расширением рекреационной деятельности, претерпевает значительные загрязнения такими тяжелыми металлами, как Pb, Cd, Zn, Cr, Zn, As, пестицидами, органическими веществами.

Оценка экологического состояния водоемов Северного Казахстана на сегодня является актуальной проблемой в связи с возрастанием интереса к данному региону как перспективному в рекреационном отношении. На сегодняшний день большинство из них оцениваются как загрязненные и умеренно-загрязненные (Козенко, 1987: 124-127; Инф. бюллетень, 2015: 101-112, 307; www.doklad.ecogofond.kz). Выбор водоемов городов Астана (реки Есиль, Акбулак, канал Нура-Есиль) и Павлодар (реки Иртыш и Усолка) был обоснован и тем, что изучаемые объекты относятся к водоемам 1-й категории качества воды, используемые для питьевого водоснабжения и имеют большое хозяйственное и промышленное значение. Основными источниками загрязнения являются промышленные и сточные воды различных предприятий теплоэнергетики (ТЭЦ-1, ТЭЦ-2, Аксуская элект-

ростанция), черной и цветной металлургии (АО «Алюминий Казахстана», АО «Казахстанский электролизный завод», АО «Каустик», «Аксусский завод ферросплавов», «Ремонтно-механический завод», «Завод железобетонных изделий»), Павлодарского нефтеперерабатывающего завода, ливневые стоки с территории населенных мест, а также минеральные и органические удобрения, смываемые талыми водами с водосборных площадей, летние пастбища и стоянки крупного и мелкого рогатого скота.

В связи с этим актуальными становятся исследования, направленные на организацию экологического мониторинга, а именно разработку методов биологического анализа чистоты вод с помощью водорослей.

Целью работы являлось исследование водорослей-индикаторов в оценке загрязненности водоемов Северного Казахстана.

Материалы и методы исследования

Отбор проб воды для изучения видового состава микроводорослей проводили в мае-сентябре (в период активной вегетации микроводорослей) с помощью планктонной сети Апштейна. Водные пробы фиксировали 40%-м формальдегидом. Сгущение количественных проб фитопланктона проводили осадочным методом (Гайсина, 2008: 152).

Определение видового состава микроводорослей проводили с использованием микроскопа серии Axio Lab. A1, фирмы Carl Zeiss (Германия), оснащенного окулярным микрометром, с выводом изображения на монитор и существующих определителей (Унифиц. методы, 1977: 11-42; Забелина, 1979: 752; Эргашев, 1979: 384; Темралева, 2014: 215). Для оценки степени загрязнения водоемов применяли индекс сапробности по методу Пантле-Бука (Pantle, 1955: 604) в модификации Сладечека (Sladecsek, 1983: 169-201) с использованием списка видов-индикаторов (Унифиц. методы, 1977: 11-42; Баринаева, 1996: 364). Степень сапробности водоема характеризуется индексом сапробности, который рассчитывался по формуле:

$$S = \sum sh / \sum h,$$

где S – степень сапробности водоема;

s – сапробное значение организма-сапробионта;

h – частота встречаемости сапробионта в пробе.

Сапробное значение каждого показательного вида (s) – табличная величина. Частота встречаемости (h) учитывалась нами по шестибальной шкале (Баринаова, 1996: 364). Основными критериями качества воды по гидрохимическим показателям являются значения предельно-допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ для рыбохозяйственных водоемов. Уровень загрязнения поверхностных вод оценивался по величине индекса загрязненности воды (ИЗВ) (Инф. бюллетень, 2017: 271-274; Сан ПиН 2.1.5.980-00, 2011: 159).

Определение концентрации тяжелых металлов в воде проводили согласно методике Лурье (Вартанов, 2009: 640). Измерения проводили на атомно-абсорбционном спектрометре с использованием пламенной атомизации АAnalist 400 (Perkin Elmer, США). Определение гидрохимических показателей определяли согласно общепринятым в химической практике методам (Кузьмина, 2007: 12). Количество растворенного кислорода определяли согласно методике Винклера, биологическое

потребление кислорода (БПК₅) определяли за 5 суток (Пименова, 2011: 138). Объектами исследования являлись пробы воды и водорослей (42 пробы), отобранные в ходе полевых исследований в летний период 2015-2017 гг.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение таксономического состава водорослей и проведение сапробиологического анализа

При изучении таксономического состава обнаружено 136 видов водорослей, которые являются индикаторами биологического загрязнения водной среды (таблица 1), из них 84 вида являются представителями диатомовых водорослей, 34 вида – зеленых, 12 видов – сине-зеленых, 5 видов – эвгленовых и 1 вид – хризофитовых водорослей (рисунок 1). Наибольшее число индикаторов относится к диатомовым (61,8 %) и зеленым водорослям (25 %) от общего числа видов-индикаторов, что отражает значение данных отделов в формировании фитопланктона исследуемых пресных водоемов.

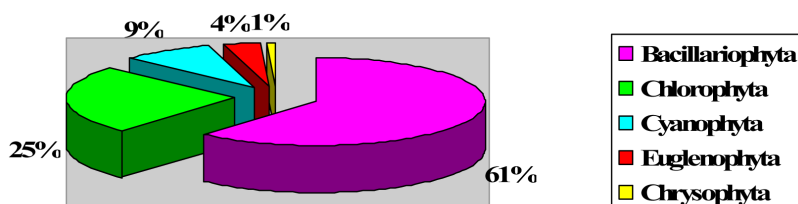


Рисунок 1 – Процентное соотношение видов-индикаторов по отделам

В соответствии с разделением всех вод на зоны сапробности среди всего населения водоемов выделяют индикаторные или показательные виды, характеризующие те или иные зоны сапроб-

ности (Пиментел, 2004: 125). Проведенный сапробиологический анализ позволил установить 136 видов водорослей-индикаторов загрязнения водной среды (таблица 1).

Таблица 1 – Водоросли-индикаторы сапробности водоемов Северного Казахстана

Наименование водорослей-индикаторов	s	Наименование водорослей-индикаторов	s
Bacillariophyta			
<i>Achnanthes hungarica</i> Grun.	α	<i>Melosira granulata</i> (Ehr.) Ralfs.	β
<i>Achnanthes lanceolata</i>	x-β	<i>Melosira varians</i> Ag.	β
<i>Amphora ovalis</i> (Kutz.)	o-β	<i>Navicula cincta</i> (Ehr.) Kutz. var. <i>cincta</i>	β-α
<i>Aulacosira granulata</i>	β	<i>Navicula cryptocephala</i> (Kutz)	α
<i>Aulacosira islandica</i> Sim.	β	<i>Navicula cuspidata</i> Kutz. var. <i>cuspidata</i>	β-α

<i>Asterionella formosa</i> Hass.	o-β	<i>Navicula dicephala</i> (Ehr.) W.Sm.	o-β
<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin.	β	<i>Navicula exiqua</i> (Greg.)	β
<i>Caloneis amphisbaena</i> Bory.	β-α	<i>Navicula gastrum</i> Ehr.	β
<i>Caloneis schumanniana</i> (Grun.)	o-β	<i>Navicula gracilis</i> Ehr.	β-o
<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>lineata</i> Ehr.	β	<i>Navicula hungarica</i> Grun.	β
<i>Cocconeis pediculus</i> Ehr.	β	<i>Navicula pygmaea</i> Kutz.	α
<i>Cyclotella comta</i> (Ehr) Kutz.	o	<i>Navicula pupula</i> Kutz.	β
<i>Cyclotella kuetzingiana</i> Thw.	β	<i>Navicula radiosa</i> Kutz. var. <i>radiosa</i>	o-β
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kutz.	α-β	<i>Navicula rhynchocephala</i> Kutz.	α
<i>Cymatopleura elliptica</i> (Breb.) Cl.	β	<i>Navicula rosellata</i> Kutz.	β
<i>Cymatopleura solea</i> (Breb) W.Sm.	β-α	<i>Navicula viridula</i> (Kutz)	α
<i>Cymbella affinis</i> Kutz.	o-β	<i>Nitzschia acicularis</i>	α
<i>Cymbella cistula</i> (Hemp) Grun.	β	<i>Nitzschia angustata</i> (W.Sm.) Grun.	α
<i>Cymbella helvetica</i> Kutz.	x-o	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kutz.) Grun.	o-β
<i>Cymbella lanceolata</i> (Ehr) V.H.	β	<i>Nitzschia fonticola</i> Grun.	o-β
<i>Cymbella prostrata</i> (Berk) Ch.	β	<i>Nitzschia hungarica</i> Grun.	α
<i>Cymbella ventricosa</i> Kutz.	β-α	<i>Nitzschia linearis</i> W.Sm.	o-β
<i>Diatoma elongatum</i> (Lingb) Ag.	β-o	<i>Nitzschia microcephala</i> Grun.	β
<i>Diatoma hyemale</i> (Lingb.) Heib.	x	<i>Nitzschia palea</i> (Kutz.) W.Sm.	α
<i>Diatoma vulgare</i> Bory var. <i>vulgare</i>	β	<i>Nitzschia sigmoidea</i> (Nitzsch)	β
<i>Diploneis ovalis</i> (Hilse) Ch.	β	<i>Pinnularia gibba</i> Ehr. var. <i>gibba</i>	χ
<i>Epithemia sores</i> Kutz.	β	<i>Pinnularia major</i> Kutz. var. <i>major</i>	β
<i>Epithemia turgida</i> (Ehr.) Kutz.	β	<i>Pinnularia viridis</i> (Ehr.) var. <i>viridis</i>	β
<i>Epithemia zebra</i> (Ehr.) Kutz.	o-β	<i>Rhoicosaenia curvata</i> (Kutz.)	β
<i>Fragilaria construens</i> (Ehr) Grun.	β	<i>Rhopalodia gibba</i>	o
<i>Fragilaria crotonensis</i> Kitt.	o-β	<i>Stephanodiscus rotula</i> (Her.)	o-β
<i>Fragilaria vaucheriae</i> (Kutz.) Boye	β	<i>Surirella capronii</i> Breb.	β
<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehr.	β	<i>Surirella linearis</i> W.Sm.	β
<i>Gomphonema capitatum</i> Ehr.	β	<i>Surirella ovata</i> Kutz.	β
<i>Gomphonema constrictum</i> Ehr.	β	<i>Surirella turgida</i> W.Sm. var. <i>turgida</i>	β
<i>Gomphonema lanceolatum</i> Ehr.	β	<i>Synedra acus</i> Kutz. var. <i>acus</i>	β
<i>Gomphonema olivaceum</i> (Lyngb)	β	<i>Synedra capitata</i> Ehr.	β
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kutz) Rabenh	β	<i>Synedra parasitica</i> (W.Sm.) Hust.	β-α
<i>Gyrosigma attenuatum</i> (Kutz)	β	<i>Synedra pulchella</i> (Ralfs) Kutz	β
<i>Gyrosigma spenseri</i> (W.Sm.) Ch.	β	<i>Synedra ulna</i> (Nitzsch.) Ehr.	β
<i>Melosira arenaria</i> Moore	χ	<i>Synedra tabulata</i> (Ag.)	α
<i>Melosira italica</i> (Ehr.) Kutz.	o-β	<i>Tabellaria fenestrata</i> (Lyngb.) Kutz.	o-β

<i>Chlorophyta</i>			
<i>Actinastrum hantzchii</i> (Lagerh.)	β	<i>Oocystis lacustris</i> Chodat.	β-o
<i>Ankistrodesmus acicularis</i> (A.Br.)	β	<i>Pediastrum boryanum</i> (Turp.) Menegh.	β
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda)Ralfs.	β-α	<i>Pediastrum duplex</i> Meyen.	β
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Dang.	α	<i>Pediastrum tetras</i> (Ehr.) Ralfs.	β
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> Chich.	ρ	<i>Protococcus viridis</i>	o
<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer.	p-α	<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerh.)	β
<i>Chlorhormidium subtile</i> (Kutz.)	o-β	<i>Scenedesmus acutus</i>	β
<i>Cladophora glomerata</i> Kutz.	β	<i>Scenedesmus arcuatus</i> Lemm.	β
<i>Closterium kuetzingii</i> Breb.	o	<i>Scenedesmus bijugatus</i> (Turp.)	β
<i>Closterium moniliferum</i> (Bory) Her	β	<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Breb.	β
<i>Closterium parvulum</i>	β	<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turp.)	β
<i>Coelastrum microporum</i> Nag.	β	<i>Scenedesmus opoliensis</i> Richt.	β
<i>Cosmarium formosulum</i> Hoff.	β	<i>Selenastrum bibraianum</i> Reinsch.	β
<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchn.)	o-β	<i>Spirogyra varians</i> (Hass.) Kutz.	β-α
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	α-β	<i>Stigeoclonium tenue</i> (Ag.) Kutz.	α
<i>Micractinium pusillum</i> Fresen.	β	<i>Tetraedron caudatum</i> (Corda) Hansg.	β
<i>Microspora amoena</i> (Kutz.) Rabenh.	χ-o	<i>Tetraedron minimum</i> A. Br.Hansg	β
<i>Cyanophyta</i>			
<i>Anabaena flos-aquae</i> Breb.	β	<i>Oscillatoria limnetica</i> Lemm.	o-β
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	β	<i>Oscillatoria pinceps</i> Vauch.	α
<i>Gloeocapsa turgida</i> (Kutz)	o	<i>Oscillatoria tenuis</i> Ag.	α
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemm.	β-α	<i>Oscillatoria terebriformis</i> (Ag.) Elenk.	α
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kutz.	β	<i>Phormidium autumnale</i>	β-α
<i>Oscillatoria chalybea</i> (Mert.) Gom.	α	<i>Phormidium molle</i> (Kutz.) Gom.	β-α
<i>Euglenophyta</i>			
<i>Euglena gracilis</i> Klebs.	o	<i>Euglena viridis</i> Ehr. var. <i>viridis</i>	ρ-α
<i>Euglena pisciformis</i> Klebs.	β	<i>Petalomonas praegnans</i>	o-β
<i>Euglena sanguinea</i> Ehr.	β		
<i>Chrysophyta</i>			
<i>Dinobryon divergens</i>	β		
Примечание: s – показатель сапробности			

Во всех водоемах наиболее часто встречаемыми видами-индикаторами являлись следующие виды микроводорослей: *Synedra acus*, *Amphora ovalis*, *Pediastrum boryanum*,

Scenedesmus quadricauda, *Scenedesmus acutus*, *Nitzschia acicularis*, *Navicula exigua*, *Cymbella ventricosa*. Микрофотографии данных водорослей представлены на рисунке 2.

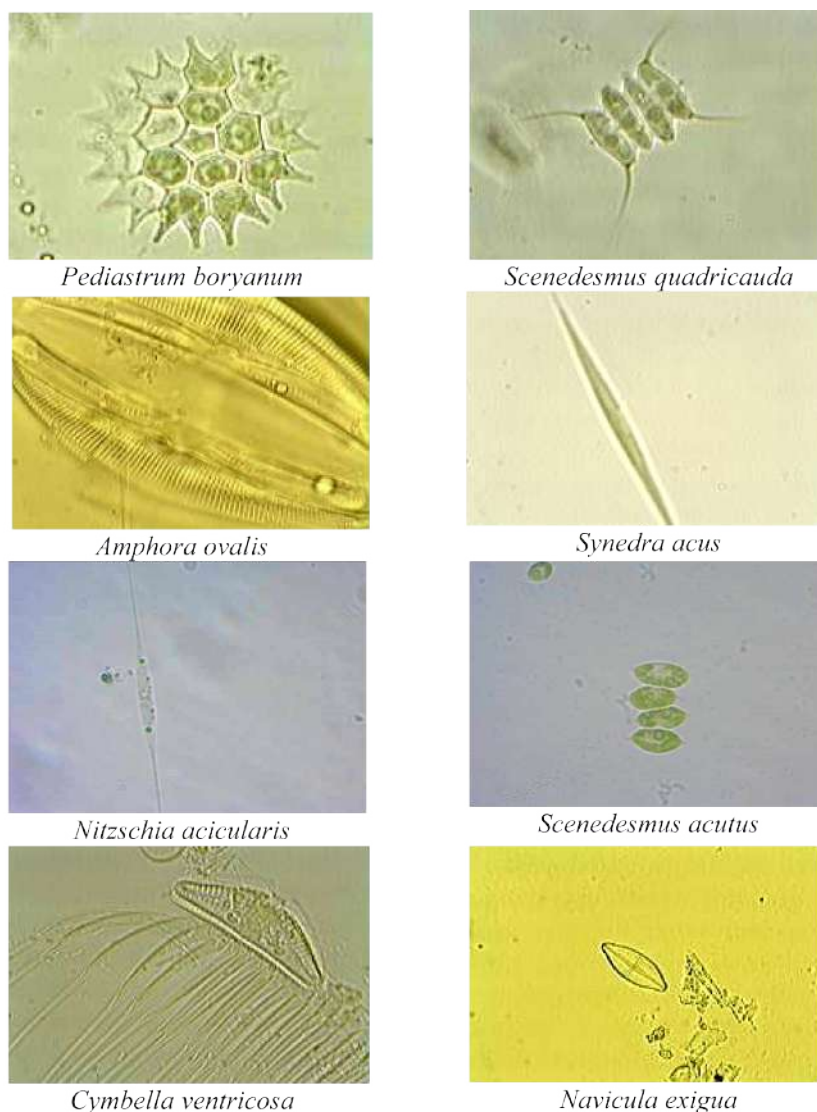


Рисунок 2 – Наиболее распространенные водоросли-индикаторы сапробности воды

Определение качества воды по гидрохимическим и гидробиологическим показателям

Следующим этапом исследования было про-

ведение гидрохимического анализа водных проб исследуемых водоемов на содержание различных загрязнителей (таблица 2).

Таблица 2 – Содержание различных поллютантов в водных образцах за 2017 г

Показатели	Ед.изм.	ПДК, мг/л	Превышение предельно-допустимых концентраций (ПДК)				
			Иртыш	Усолка	Есиль	Акбулак	Нура-Есиль
БПК5	мг O ₂ /дм ³	3	2,4	3,0	3,6	3,9	3,2
Растворенный кислород	мг/дм ³	не менее 4	10,2	11,1	9,7	8,9	8,3
Сульфаты	мг/л	100	в 1,2 раз	в 1,7 раз	в 2,6 раз	в 3 раза	в 2,2 раз
Хлориды	мг/л	300	не прев.	в 1,02 раз	не прев.	в 1,4 раз	в 1,7 раз

Магний	мг/л	40	не прев.	не прев.	не прев.	в 1,3 раз	в 2 раза
нитриты	мг/л	0,08	не прев.	не прев.	в 1,2 раз	в 2,2 раз	в 1,8 раз
нитраты	мг/л	40	не прев.	1,6	в 1,4 раз	в 1,2 раз	в 1,1 раз
Аммоний солевой	мг/л	0,5	в 1,4 раз	в 1,1 раз	в 1,7 раз	в 2,5 раз	в 2,8 раз
Медь	мг/л	0,001	в 1,7 раз	в 2,8 раз	в 2,4 раз	в 5,8 раз	в 3,5 раз
Кадмий	мг/л	0,005	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.
Кобальт	мг/л	0,005	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.
никель	мг/л	0,01	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.	не прев.
Марганец	мг/л	0,01	не прев.	не прев.	в 4,1 раз	в 2,2 раз	в 3,5 раз
Цинк	мг/л	0,01	в 1,5 раз	не прев.	в 1,8 раз	в 2,2 раз	в 1,5 раз
Свинец	мг/л	0,01	не прев.	не прев.	не прев.	в 1,4 раз	не прев.
Железо	мг/л	0,1	в 5 раз	в 3,8 раз	в 9,4 раз	в 5,6 раз	в 6,7 раз

В результате проведенного анализа установлено, что во всех исследуемых реках температура воды в среднем составила 20-21 °С, рН = 7,3-8,0, концентрация растворенного в воде кислорода варьировала от 8,3 до 9,7 мг/дм³, БПК₅ – от 2,4 до 3,9 мг О₂/дм³. Как видно из таблицы 2, превышения ПДК были зафиксированы по следующим веществам: по сульфатам во всех водоемах от 1,2 до 3 ПДК, по солевому аммонии – от 1,1 до 2,8 раз, по меди – от 1,7 до 5,8 раз, по железу общему – от 3,8 до 9,4 раз, по хлоридам – от 1,02 до 1,7 раз (Усолка, Акбулак и Нура-Есиль), по магнию – от 1,3 до 2 раз (Акбулак, Нура-Есиль), по нитритам – от 1,2 до 22 раз (Есиль, Акбулак, Нура-Есиль), по нитратам – от 1,1 до 1,6 раз (Усолка, Акбулак, Есиль, Нура-Есиль), по марганцу – от 2,2 до 4,1 (Есиль, Акбулак, Нура-Есиль), по цинку – от 1,5 до 2,2 раз (Иртыш, Есиль, Акбулак, Нура-Есиль) и свинцу – в 1,4 раза в реке Акбулак.

По показателям БПК₅ качество воды в реке Иртыш на момент обследования оценивалось «умеренным уровнем загрязнения», в остальных водных объектах – «загрязненной». Растворенный кислород находился в достаточном количестве, что обеспечивает хорошие условия для дыхания водных гидробионтов. Содержание растворенного кислорода и БПК в воде характеризует кислородный режим водоема и имеет важнейшее значение для оценки экологического и санитарного состояния водоема.

Гидробиологический анализ по фитопланктону основывался на сапробиологическом определении принадлежности видов-индикаторов и зоны загрязнения по каждому водоему.

Фитопланктон в реке Есиль был развит хорошо, в пробах обнаружены 125 видов водорос-

лей, из которых диатомовые водоросли составили 60%, зеленые – 29,65%, сине-зеленые – 9,6% и эвгленовые – 0,8% от общей биомассы фитопланктона. Выявлены 89 видов-индикаторов сапробности воды (71,2% от общего числа видов-индикаторов). В среднем, индекс сапробности составил 2,0, что соответствовало 3-му классу – «умеренно-загрязненных» вод. Индекс сапробности по Пантле и Букку в среднем составил 1,98, что соответствовало также 3-му классу качества вод – «умеренно-загрязненные» (Инф. бюллетень, 2017: 271-274).

Фитопланктон в реке Акбулак был развит хорошо. Обнаружены 102 вида водорослей, из которых диатомовые составили 57,8%, зеленые – 27,5%, сине-зеленые – 11,8%, эвгленовые – 0,8% и хризифитовые – 1% от общей биомассы. Выявлены 78 видов-индикаторов сапробности воды (76,5% от общего числа видов). В среднем, индекс сапробности составил 2,1, что соответствовало 3-му классу «умеренно-загрязненных» вод. Средний индекс сапробности по Пантле и Букку составил 2,13, что соответствовало также 3-му классу качества вод – «умеренно-загрязненные».

Фитопланктон в канале Нура-Есиль также был развит хорошо. Обнаружены 92 вида водорослей, из которых диатомовые водоросли составили 60,9%, зеленые – 27,2%, сине-зеленые – 9,8% и эвгленовые – 2,1% от общей биомассы фитопланктона. Выявлены 79 видов-индикаторов сапробности воды (85,9% от общего числа видов). В среднем, индекс сапробности составил 2,06, что соответствовало 3-му классу – «умеренно-загрязненных» вод. Индекс сапробности по Пантле и Букку в среднем составил 2,07, что

соответствовало также 3-му классу качества вод – «умеренно-загрязненные».

Фитопланктон в реке Иртыш был развит хорошо. В пробах обнаружены 84 вида водорослей, из которых диатомовые водоросли составили 78,6%, зеленые водоросли – 19%, сине-зеленые – 1,2% и эвгленовые – 1,2% от общей биомассы фитопланктона. Выявлены 63 вида-индикатора сапробности воды (75% от общего числа видов). В среднем, индекс сапробности составил 1,8, что соответствовало 3-му классу – «умеренно-загрязненных» вод. Индекс сапробности по Пантле и Букку в среднем составил 1,72, что соответствовало также 3-му классу качества вод – «умеренно-загрязненные».

В реке Усолка фитопланктон был развит несколько слабее. В пробах обнаружен 61 вид водорослей, из которых диатомовые составили 72,1%, зеленые водоросли – 21,3% и сине-зеленые – 6,6% от общей биомассы фитопланктона. Выявлены 50 видов-индикаторов сапробности воды (82% от общего числа видов-индикаторов). В среднем, индекс сапробности составил 1,6, что соответствовало 3-му классу – «умеренно-загряз-

ненных» вод. Средний индекс сапробности по Пантле и Букку составил 1,56, что соответствовало также 3-му классу качества вод – «умеренно-загрязненные».

Таким образом, по гидрохимическим показателям качество воды исследуемых нами водных объектов относилось к 3-му классу и оценивалось «умеренным уровнем загрязнения» водной среды. По БПК₅ качество воды в реках Акбулак, Есиль, Усолка и канала Нура-Есиль оценивалось как «загрязненная», в реке Иртыш – как «умеренно загрязненная». Кислородный режим воды в исследуемых водоемах был в норме.

Среди видов-индикаторов наиболее многочисленными были представители β-мезосапробности – 71 вид, 14 видов показатели олигосапробности, 10 видов – α-мезосапробности.

Весь диапазон сапробности мы условно разделили на зоны: «загрязненности» и «чистоты». Зона «загрязненности»: р-α, -α, -α-β, β-α, -β, -β-о, зона «чистоты»: о-β, о, о-х, х-β, х, х-о (таблица 3). Процентные соотношения этих зон позволили нам определить зоны загрязненности по водоемам.

Таблица 3 – Процентное соотношение индикаторно-сапробных видов микроводорослей в различных водных экосистемах

Водные экосистемы	Число сапробных видов	р-α	α	α-β	β-α	β	β-о	о-α	о-β	о	о-х	х-β	х	х-о
		Зона «загрязненности» (%)							Зона «чистоты»					
Есиль	89	1	9	1	8	56	2	0	8	2	0	0	1	1
		(86,5%)							(13,5%)					
Акбулак	78	3	12	1	11	41	1	0	8	1	0	0	1	0
		(87,2%)							(12,8%)					
Нура-Есиль	79	1	11	1	6	50	1	0	5	3	0	0	1	0
		(86,6%)							(11,4%)					
Иртыш	63	1	2	1	3	34	2	0	13	4	0	1	1	1
		(68,2%)							(31,8%)					
Усолка	50	1	1	0	2	22	2	0	13	4	0	1	3	1
		(56,0%)							(44,0%)					

Установлено, что в фитопланктоне исследуемых водоемов были обнаружены индикаторы практически всех зон сапробности, значительная часть их относилась к β-мезосапробам (52,2 % от общего числа видов-индикаторов). Обитатели чистых вод (ксеносапробы, оли-

госапробы и обитатели переходной зоны между этими категориями вод) формировали 24,3% от количества индикаторов, что, на наш взгляд, свидетельствовало о существенном потенциале самоочищающей способности водоемов. Менее трети (23,5%) составили виды, обладающие вы-

сокой степенью толерантности к содержанию органических веществ и могут благополучно существовать как в чистых, так и в загрязненных водах (виды-индикаторы х-р, о-р, р-о и о-а-мезосапробной зон).

Зона загрязненности в процентном соотношении уменьшалась от реки Есиль к реке Усолка (от 86,5 до 56%), что подтверждало увеличение зоны чистоты (от 13,5 до 44%) в этом же направлении.

Расчет средней сапробности биоценоза по Пантле-Букку подтвердил, что фитопланктон представлен β -мезосапробами (индекс сапробности – 1,63 – 2,13). В β -мезосапробная зона характеризуется присутствием аммиака и продуктов его окисления – азотной и азотистой кислот, аминокислот нет, сероводород встречается в незначительных количествах, кислорода в воде много, минерализация идет за счет полного окисления органического вещества (Пчелкин, 2004: 2-19). Видовое разнообразие водорослей здесь больше, чем в α -мезосапробной зоне, но численность и биомасса организмов ниже (Maso, 2006: 620-630).

По проведенным наблюдениям выяснилось, что в весенне-летний период происходило увеличение количественных характеристик фитопланктона, тогда как в зимний время наблюдался минимум фитопланктона. В межгодовом аспекте колебания индекса сапробности в водоемах были весьма незначительны.

Заключение

В результате проведенных исследований обнаружены 136 видов водорослей-ин-

дикаторов загрязненности воды. Выявлено, что во всех реках в структуре фитопланктона преобладают диатомовые (84 вида), зеленые (34 вида) и сине-зеленые (12 видов) водоросли. Состав и обилие фитопланктона, выявленные изменения в его состоянии свидетельствовали о том, что исследуемые водоемы подвержены антропогенному эвтрофированию и загрязнению легкоокисляемыми органическими веществами.

Основными представителями видов-индикаторов фитопланктона на протяжении всего периода исследований были β -мезосапробные организмы. Среднее значение индекса сапробности составило 1,63-2,13. По гидробиологическим и гидрохимическим показателям исследуемые водоемы относятся к 3-му классу и оцениваются в настоящий момент как «умеренно-загрязненные».

В связи с этим, считаем целесообразным разработать и принимать комплексные меры по очистке загрязненных водоемов от поллютантов различного происхождения биологическим путем.

Изучение и использование водорослей-индикаторов еще раз доказывает их важную роль в оценке экологического состояния водных объектов, улучшении экологического состояния окружающей среды, а также рассматривать микроводоросли как перспективные биоаккумуляторы тяжелых металлов и органических веществ и организмы, активно принимающие участие в самоочищении водоемов.

Литература

- 1 Абакумов В.А. Продукционные аспекты биомониторинга пресноводных экосистем // Продукционно-гидробиологические исследования водных экосистем. – Л.: Наука, 1997. – С. 51-61.
- 2 Баринаева С.С., Медведева Л.А. Атлас водорослей-индикаторов сапробности. – Владивосток: Дальнаука, 1996. – 364 с.
- 3 Варганов А.З., Рубан А.Д., Шкурятин В.Л. Методы и приборы контроля окружающей среды и экологический мониторинг. – М.: Изд-во «Горная книга», 2009. – 640 с.
- 4 Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152 с.
- 5 Деревенская О.Ю. Методы оценки качества вод по гидробиологическим показателям. – Казань: КФУ, 2015. – 44 с.
- 6 Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова В.С. Определитель пресноводных водорослей СССР. – М.: «Сов.наука», 1979. – Вып. 4. Диатомовые водоросли. – 752 с.
- 7 Заядан Б.К. Роль фототрофных микроорганизмов в мониторинге, функционировании и ремедиации водных экосистем: Автореф... докт. биол. наук. Алматы, 2006. – 34 с.
- 8 Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды на территории РК РГП «Казгидромет». – 2015. – С. 101-307.
- 9 Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды на территории РК РГП «Казгидромет». – 2017. – № 01 (25). – С. 271-274.
- 10 Козенко Э.П., Бабаева М.К., Мадемарова Н.А. Материалы к флоре водорослей отдельных водоемов некоторых областей Казахстана // Ботанические материалы гербария Института ботаники. – 1987. – № 15. – С. 124-127.
- 11 Кузьмина И.А. Содержание растворенного кислорода в воде: Методические указания. Великий Новгород: Нов.ГУ, 2007. – 12 с.

- 12 Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. – СПб.: Крисмас, 2004. – 245 с.
- 13 Пиментел Ф.Хосе Луис. Микроводоросли как объект биомониторинга в условиях антропогенного стресса при действии тяжелых металлов: Дис. ... канд. биол. наук. – М., 2004. – 125 с.
- 14 Пашкевич М.А., Шуйский В.Ф. Экологический мониторинг: учебное пособие. – СПб., 2002. – 88 с.
- 15 Пименова Е.В. Химические методы анализа в мониторинге водных объектов. – Пермь: Изд-во ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА, 2011. – 138 с.
- 16 Пчелкин А.В., Слепов В.Б. Использование водорослей и лишайников в экологическом мониторинге и биоиндикационных исследованиях. – М., 2004. – С. 2-19.
- 17 Сан ПиН 2.1.5.980-00 «Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. Санитарные правила и нормы» (с изм. от 04.02.2011).
- 18 Темралеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С., Андреева А.М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). – Кострома: Костромской печатный дом, 2014. – 215 с.
- 19 Унифицированные методы исследования качества вод // Методы биологического анализа вод. – М.: изд-во СЭВ, 1977. – Ч. 3. Индикаторы сапробности. – С. 11-42.
- 20 Эргашев А.Э. Определитель протококковых водорослей Средней Азии. – Ташкент, 1979. – Кн. 2. – 384 с.
- 21 Chang, L., Roberts A. P., Winklhofer M., Heslop D., Dekkers M. J., Krijgsman W, Fitz Gerald, J. D. and Smith P. Magnetic detection and characterization of biogenic magnetic minerals: A comparison of ferromagnetic resonance and first-order reversal curve diagrams // J. Geophys. Res. Solid Earth, 2014. – P. 6136–6158.
- 22 Ludwig, P., Egli R., Bishop S., Chernenko V., Frederichs T., Rugel G. and Merchel S. Characterization of primary and secondary magnetite in marine sediment by combining chemical and magnetic unmixing techniques // Global Planet. Change, 2013. – 110. P. 321–339.
- 23 Martinez-Tabche L., Gernau-Faz C., Ramirez-Moras, Galar-Castelan I. Efecto del carbutil y del polm sobre fenoles, clorofila y protein de la mcroalga Ankistroadesmus falcatus // Rev. Latinoa. Microbiol., 1995. – V. 37. –P. 93 – 99.
- 24 Maso M. Harmful microalgae blooms (HAB); problematic and conditions that induce them // Marine Pollution Bulletin, 2006. – V. 53. – P. 620–630.
- 25 Pantle F., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewasser und die Darstellung der Ergebnisse. – 1955. – 604 p.
- 26 Sergeyenko T.V., Los D.A. Cyanobacterial leader peptides for protein secretion // FEMS Microbiol. Lett. (218), 2003. – P. 351–357.
- 27 Sladeczek V. – Rotifers as indicators of water quality// Hydrobiologia. – 1983, V. 100. – P. 169–201.
- 28 Stoermer E.F., Smol J.P. The diatoms/ application for the environmental and lertth sciences. – Cambridge, 1999. – 469 p.
- 29 Wilhelm C. The biochemistry and physiology of light-harvesting processes in chlorophyll b and chlorophyll c containing algae // Plant. Biochem., 1990. – V. 28 (2). – P. 293 – 306.
- 30 www.doklad.ecogofond.kz
- 31 Ying, G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // Environ.Int. – 2006, V. 32 (3). – P. 417–431.

References

- 1 Abakumov V.A. Produkcijonnye aspekty biomonitoringa presnovodnyx ekosistem [Production aspects of biomonitoring of freshwater ecosystems] Produkcijonno-gidrobiologicheskie issledovaniya vodnyx ekosistem. L.: Nauka, 1997: 51-61 (In Russian).
- 2 Barinova SS, Medvedeva LA Atlas vodoroslei – indikatorov saprobnosti [Atlas of algae - indicators of saprobity] Vladivostok: Dal'nauka, 1996: 364 (In Russian).
- 3 Chang, L., Roberts A. P., Winklhofer M., Heslop D., Dekkers M. J., Krijgsman W, Fitz Gerald, J. D. and Smith P. Magnetic detection and characterization of biogenic magnetic minerals: A comparison of ferromagnetic resonance and first-order reversal curve diagrams // J. Geophys. Res. Solid Earth, 2014. – P. 6136–6158.
- 4 Derevenskaya O.Yu. Metody otsenki kachestva vod po gidribiologicheskim pokazatelyam [Methods for assessing water quality by hydrobiological indicators] Kazan: CFU, 2015: 44 (In Russian).
- 5 Ergashev A.E. Opredelitel protokokkovykh vodoroslei Tsentralnoi Azii [The determinant of Protococcal algae of Central Asia] Tashkent, Book. 2 (1979): 384 (In Russian).
- 6 Gajsina L.A., Fazlutdinova A.I., Kabirov R.R. Sovremennyye metody vydeleniya i kultivirovaniya vodoroslej [Modern methods of isolation and cultivation of algae] Uchebnoe posobie. Ufa: Izd-vo BGPU, 2008: 152 (In Russian).
- 7 Informacionnyj byulleten o sostoyanii okruzhayushhej sredy na territorii RK RGP [Information bulletin on the state of the environment in the territory of the Republic of Kazakhstan] Kazgidromet 2015: 101-307 (In Russian).
- 8 Information bulletin on the state of the environment in the territory of the Republic of Kazakhstan RSE [Information bulletin on the state of the environment in the territory of the Republic of Kazakhstan] Kazgidromet No. 01 (25) (2017): 271-274 (In Russian).
- 9 Kozenko EP, Babaeva MK, Mademarova NA Materialy k flore vodoroslei otdelnykh vodoyemov nekotorykh oblastei Kazakhstana [Materials on the flora of algae of individual reservoirs of some regions of Kazakhstan] Botanical materials of the herbarium of the Institute of Botany No. 15 (1987): 124-127 (In Russian).
- 10 Kuzmina I.A. Soderzhaniye rastvorennogo kisloroda v vode [Dissolved oxygen content in water] Guidelines. Veliky Novgorod: Nov.GU, 2007: 12 (In Russian).

- 11 Ludwig, P., Egli R., Bishop S., Chernenko V., Frederichs T., Rugel G. and Merchel S. Characterization of primary and secondary magnetite in marine sediment by combining chemical and magnetic unmixing techniques // *Global Planet. Change*, 2013. - 110. P. 321–339.
- 12 Martinez-Tabche L., Gernau-Faz C., Ramirez-Moras, Galar-Castelan I. Efecto del carbutil y del polm sobre fenoles, clorofila y protein de la microalga *Ankistrodesmus falcatus* // *Rev. Latinoa. Microbiol.*, 1995. - v. 37. -P. 93 - 99.
- 13 Muraviev A.G. Rukovodstvo po opredeleniyu pokazatelei kachestva vody polevymi metodami [Guidelines for the determination of water quality indicators by field methods] St. Petersburg: Krismas, 2004: 245 (In Russian).
- 14 Maso M. Harmful microalgae blooms (HAB); problematic and conditions that induce them // *Marine Pollution Bulletin*, 2006. - v.53. - P.620-630.
- 15 Pantle F., Buck H. Die biologische Überwachung der Gewasser und die Darstellung der Ergebnisse. - 1955. - 604 p.
- 16 Pashkevich MA, Shuisky V.F. *Ekologicheskii monitoring* [Ecological monitoring]. Tutorial. St. Petersburg, 2002: 88 (In Russian).
- 17 Pchelkin AV, Slepov V.B. Ispolzovaniye vodoroslei i lishainikov v ekologicheskom monitoringe i bioindikatsionnyh issledovaniyah [Use of algae and lichens in environmental monitoring and bioindication research] Moscow, 2004: 2-19 (In Russian).
- 18 Pimentel F.Xose Luis. Mikrovodorosli kak obekt biomonitoringa v usloviyax antropogennogo stressa pri dejstvii tyazhelykh metallov [Microalgae as an object of biomonitoring in conditions of anthropogenic stress under the action of heavy metals] Dis. kand. biol. nauk. Moskva, 2004: 125 (In Russian).
- 19 Pimenova E.V. Himicheskiye metody analiza v monitoringe vodnykh ob'ektov [Chemical methods of analysis in monitoring water bodies] Perm: FSBEU of the Higher Professional Education Perm Perm State Agricultural Academy, 2011: 138 (In Russian).
- 20 San Pin 2.1.5.980-00 Vodootvedeniye naseleennykh mest, sanitarnaya ohrana vodnykh ob'ectov. Gigienicheskiye trebovaniya k ohrane poverhnostnykh vod. Sanitarnye pravila i normy [Drainage of populated areas, sanitary protection of water bodies. Hygienic requirements for the protection of surface waters. Sanitary rules and norms] (as amended on 04.02.2011) (In Russian).
- 21 Sergeyenko T.V., Los D.A. Cyanobacterial leader peptides for protein secretion // *FEMS Microbiol. Lett.* (218), 2003. P. 351-357.
- 22 Sladeczek V. - Rotifers as indicators of water quality// *Hydrobiologia*. 1983. V. 100. P. 169-201.
- 23 Stoermer E.F., Smol J.P. *The diatoms/ application for the environmental and lertth sciences.* – Cambridge, 1999. – 469 p.
- 24 Temraleeva A.D., Mincheva E.V., Bukin Yu.S., Andreeva A.M. *Sovremennye metody vydeleniya, kultivirovaniya i identifikatsii zelenykh vodoroslej (Chlorophyta)* [Modern methods for isolation, cultivation and identification of green algae] Kostroma: Kostromskoj pechatnyj dom, 2014: 215 (In Russian).
- 25 Unificirovannye metody issledovaniya kachestva vod // *Metody biologicheskogo analiza vod* [Unified methods for the study of water quality // *Methods of biological analysis of water*] Moscow: Izd-vo SEV, Part 3. Indicators of saprobity 1977: 11-42 (In Russian).
- 26 Vartanov A.Z., Ruban A.D., Shkuratin V.L. *Metody i pribory kontrolya okruzhayushhej sredy i ekologicheskij monitoring* [Methods and instruments for environmental monitoring and environmental monitoring] M.: Izd-vo «Gornaya kniga», 2009: 640 (In Russian).
- 27 Wilhelem C. The biochemistry and physiology of ligt-harvesting processes in chlorophyll b and chlorophyll c containing algae // *Plant. Biochem.*, 1990. - v.28 (2). - P. 293 - 306.
- 28 www.doklad.ecogofond.kz
- 29 Ying, G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // *Environ.Int.* - 2006, V.32 (3). -P.417-431.
- 30 Zabelina M.M., Kiselev I.A., Proshkina-Lavrenko A.I., Sheshukova V.S. *Opredelitel presnovodnykh vodoroslei SSSR* [The determinant of freshwater algae of the USSR] M. : “Sov.nauka” 4 (1979) :752 (In Russian).
- 31 Zayadan B.K. *Rol fototrofnyx mikroorganizmov v monitoringe, funkcionirovanii i remediacii vodnykh ekosistem* [Role of phototrophic microorganisms in monitoring, functioning and remediation of aquatic ecosystems] Avtoref. dokt. biol. nauk. Almaty, 2006: 34 (In Russian).

2-бөлім

**ҚОРШАҒАН ОРТА ЛАСТАУШЫЛАРЫНЫҢ
БИОТАҒА ЖӘНЕ ТҰРҒЫНДАР ДЕНСАУЛЫҒЫНА
ӘСЕРІН БАҒАЛАУ**

Раздел 2

**ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ
ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
НА БИОТУ И ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ**

Section 2

**ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL
POLLUTION ON BIOTA AND HEALTH**

¹Бурашев Е.Д., ²Султанкулова К.Т., ³Кожабергенов Н.С., ⁴Садикалиева С.О.,
⁵Орынбаев М.Б., ⁶Сандыбаев Н.Т., ⁷Зайцев В.Л.

¹магистр, младший научный сотрудник, e-mail: yerbol.bur@gmail.com*,

²кандидат биологических наук, ассоц. профессор, зав. лаб., e-mail: sultankul70@mail.ru,

³магистр, научный сотрудник, e-mail: nks@gmail.com,

⁴магистр, младший научный сотрудник, e-mail: sadikalieva86@mail.ru,

⁵кандидат ветеринарных наук, профессор, нач. отдела, e-mail: omb65@mail.ru,

⁶кандидат биологических наук, профессор, зам. Ген. директора, e-mail: snt68@mail.ru,

⁷кандидат биологических наук, профессор, гл. науч. сотрудник, e-mail: zaitsev.bio@mail.ru

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Жамбылская область, Казахстан

МОРФОМЕТРИЯ И НЕКОТОРЫЕ ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИРУСА ГРИППА ЛОШАДЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

В работе представлены результаты электронной микроскопии штаммов вируса гриппа лошадей, выделенных с 2010 по 2012 гг. при проведении мониторинговых мероприятий. Для проведения эпизоотологического мониторинга гриппа лошадей в Республике Казахстан проведены экспедиции в Южно-Казахстанскую, Жамбылскую, Алматинскую, Восточно-Казахстанскую, Костанайскую, Актюбинскую и Западно-Казахстанскую области. В общей сложности за 2010–2012 гг. для лабораторных исследований в различных регионах Республики Казахстан было отобрано и доставлено в НИИПББ 2404 пробы.

По результатам исследований были определены основные физические и морфометрические свойства. Электронно-микроскопический анализ показал отсутствие контаминации посторонними микроорганизмами в очищенных препаратах вируса гриппа лошадей. В процессе очистки вирионы сохраняют свою структуру. Штаммы A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 и A/equine/LKZ/09/2012 вируса гриппа лошадей в популяциях исследованных изолятов имеют в основном круглые и овальные формы. Размер круглых вирионов составляет 70 – 200 нм в диаметре, а длина овальных порядка 100 – 300 нм. Около 72 % популяции изолятов гриппа лошадей составляют вирионы диаметром 110 – 180 нм. Поверхность вирусных частиц покрыта шипиками высотой 6–8 нм, а толщина наружной оболочки составляет 8,5–9 нм.

Во всех исследованных штаммах вируса гриппа лошадей в популяции преобладают в основном вирионы круглой (95 %) и овальной формы (5 %). Для всех исследованных изолятов характерен слабовыраженный полиморфизм. Проведенные исследования показали, что исследуемые изоляты практически не отличаются как по морфологии, так и по таким физическим показателям, как плавающая плотность и константа седиментации вириона. Все показатели лежат в области значений, характерных для семейства ортомиксовирусов.

Однако в виду высокой генетической изменчивости среди популяции вируса гриппа лошадей, штамма A/equine/LKZ/09/2012 были обнаружены округлые вирионы размерами порядка 450 нм. и нитевидные длиной более 750 нм. Для данных вирионов характерно сохранение поверхностной структуры гликопротеидов, однако наблюдается начальная степень дезинтеграции вируса для последующего выхода рибонуклеопротеида (РНП).

Ключевые слова: вирус, грипп лошадей, ультрацентрифугирование, электронная микроскопия, физические константы.

Бурашев Е.Д.^{1*}, Султанкулова К.Т.², Қожабергенов Н.С.³, Садикалиева С.О.⁴,
Орынбаев М.Б.⁵, Сандыбаев Н.Т.⁶, Зайцев В.Л.⁷

¹магистр, кіші ғылыми қызметкер, e-mail: yerbol.bur@gmail.com*,

²биология ғылымдарының кандидаты, қауымдаст. профессор, зертхана меңгерушісі, e-mail: sultankul70@mail.ru,

³магистр, ғылыми қызметкер, e-mail: nks@gmail.com,

⁴магистр, кіші ғылыми қызметкер, e-mail: sadikalieva86@mail.ru,

⁵ветеринария ғылымдарының кандидаты, профессор, бөлім басшысы, e-mail: omb65@mail.ru,

⁶биология ғылымдарының кандидаты, профессор, Бас дир. орынбасары, e-mail: snt68@mail.ru,

⁷биология ғылымдарының кандидаты, профессор, бас ғылыми қызметкер, e-mail: zaitsev.bio@mail.ru

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК,
Қазақстан, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қалашығы

Қазақстан Республикасының аумағында бөлініп алынған жылқы тұмау вирусының морфометриясы және физикалық сипаттамасы

Бұл ғылыми жұмыста мониторинг іс-шараларын өткізу кезінде 2010 жылдан бастап 2012 жылға дейін бөлінген жылқы тұмау вирусының электрондық микроскопия зерттеу нәтижелері көрсетілген. Қазақстан Республикасындағы эпизоотологиялық жағдайды қадағалау үшін Оңтүстік Қазақстан, Жамбыл, Алматы, Шығыс Қазақстан, Қостанай, Ақтөбе және Батыс Қазақстан облыстарында экспедиция жүргізілді. 2010-2012 жж. Қазақстан Республикасының әртүрлі аймақтарынан зертханалық зерттеулер үшін Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институтына 2404 сынама жеткізілген.

Зерттеу нәтижелері бойынша негізгі физикалық және морфометриялық қасиеттері анықталды. Тазартылған жылқы тұмау вирусының препараттарында электрондық микроскопия микроорганизмдер контаминациясынан таза екендігі көрсетілді. В тазалау барысында вириондар өз құрылымын сақтайды. Жылқы тұмау вирусының A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 және A/equine/LKZ/09/2012 штамдары зерттелген популяцияларда негізі домалақ және сопақ түрлері анықталған. Домалақ вириондар диаметрі 70-200 нм құрайды, ал сопақ вириондарының ұзындығы 100-300 нм. Жылқы тұмау вирусының популяциясының құрамында 72% диаметрі 110-180 нм құрайды. Вирустық сыртқы қабаттары ұзындығы 6-8 нм тікенектерімен, сондай-ақ қабатының қалыңдығы 8,5-9 нм құрайды.

Жылқы тұмау вирусының популяциясында барлық зерттеу нәтижесінде негізінен домалақ вириондардың (95%) және сопақ түрлері (5%) құрайтыны анықталды. Барлық зерттелген штамдарға полиморфизм қатыстылығы жоқ. Жүргізілген зерттеулер көрсеткендей, штамдар тәжірибе ретінде морфология бойынша ерекшеленбейді, сондай-ақ нақты физикалық сипаттар седиментация мен тығыздық көрсеткіштері бойынша бірыңғайлығы көрсетіледі. Барлық көрсеткіштер бойынша ортомиксовирустарға сай деректерге негізделген.

Алайда, генетикалық өзгерістердің дамуына байланысты жылқы тұмау вирусының A/equine/LKZ/09/2012 штамы бойынша диаметрі 450 нм, ал тізбектілерінің ұзындығы 750 нм вириондар кездеседі. Зерттелген вириондар сыртқы қабатты гликопротеидтер құрылымын сақтап, сонымен қатар рибонуклеопротеидтен (РНП) шығу үшін вирустың дезинтеграциясы басталғаны мәлім.

Түйін сөздер: вирус, жылқы тұмауы, ультрацентрифугалау, электрондық микроскопия, физикалық тұрақтылар.

Burashev Y.D.^{1*}, Sultankulova K.T.², Kozhabergenov N.S.³, Sadikalieva S.O.⁴,
Orynbayev M.B.⁵, Sandybayev N.T.⁶, Zaitsev V.L.⁷

¹master, junior researcher, e-mail: yerbol.bur@gmail.com*,

² candidates of biological sciences, professor, head of lab. e-mail: sultankul70@mail.ru,

³master researcher, e-mail: nks@gmail.com,

⁴master, junior researcher, e-mail: sandu@mail.ru,

⁵ candidates of veterinary sciences, professor, head of department, e-mail: omb65@mail.ru,

⁶ candidates of biological sciences, professor, Deputy of Gen director, e-mail: snt68@mail.ru,

⁷ candidates of biological sciences, professor, general researcher, e-mail: zaitsev.bio@mail.ru

«Research Institute for Biological Safety Problems» Zhambul'skaya oblast, Korday region, Gvardeyskiy

Morphometry and some physical characteristics of the equine influenza virus isolated in the territory of the Republic of Kazakhstan

The paper presents the results of electron microscopy of strains of equine influenza virus, isolated from 2010 to 2012. when conducting monitoring activities. Expeditions to the South Kazakhstan, Zhambyl, Almaty, East Kazakhstan, Kostanay, Aktyubinsk and West Kazakhstan oblasts were conducted to carry out epizootological monitoring of equine influenza in the Republic of Kazakhstan. In total, for the years 2010-2012. For laboratory investigations in different regions of the Republic of Kazakhstan, 2404 samples were collected and delivered to NIIBB.

Based on the results of the studies, the main morphometric properties were determined. Electron microscopic analysis showed no contamination by foreign microorganisms in purified preparations of the horse flu virus. During the purification process, the virions retain their structure. Strains A / equine / Baizak / 09/2012, A / equine / Kostanai / 09/2012, A / equine / Matybulak / 10/2012 and A / equine / LKZ / 09/2012 equine influenza virus in the populations of the studied isolates have mainly round and oval shapes. The size of round virions is 70 – 200 nm in diameter, and the length of oval ones is of the order of 100 – 300 nm. About 72% of the population of equine influenza isolates are virions with a diameter of 110 – 180 nm. The surface of the viral particles is covered with spines of 6–8 nm in height, and the thickness of the outer shell is 8.5–9 nm.

In all studied isolates of the equine influenza virus, the majority of the virions are round (95%) and oval (5%) virions. For all isolates polymorphism is not typical. The conducted studies showed that the investigated isolates practically do not differ both in morphology and in such physical parameters as the floating density and the sedimentation constant of the virion. All indices lie in the range of values characteristic for the family of orthomixoviruses.

However, in view of the development of genetically mutation among the population of the equine influenza virus, A / equine / LKZ / 09/2012, rounded viruses with a size of about 450 nm were found and filamentary lengths over 750 nm. These virions are characterized by the preservation of the surface structure of glycoproteins, but an initial degree of disintegration of the virus for the subsequent release of ribonucleoprotein (RNP) is observed.

Key words: virus, equine influenza, ultracentrifugation, electron microscopy, physical constants.

Введение

Среди инфекционных болезней лошадей грипп является одним из наиболее значимых инфекционных респираторных вирусных заболеваний, которое за короткое время может вызвать поражение до 90 % поголовья лошадей одного хозяйства или целого конного завода. Заболевание наносит существенный ущерб коневодству вследствие снижения племенной и спортивной ценности переболевших животных, затрат на лечение, карантинных мероприятий, срыва планов спортивных соревнований и других экономически значимых причин (Lief, 1965: 225-226; Юров, 1976: 81-90; Dowdle, 1964: 398).

Возбудитель гриппа лошадей – РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству Orthomyxoviridae, 80-120 нм в диаметре (Hayward, 2010: 12-18; Andrewes, 1978: 203–220; Мильбурн, 1986: 11–31). Обладает чрезвычайно продуктивным механизмом рекомбинаций, обеспечивающим быструю антигенную изменчивость. Согласно экологической гипотезе, сохранению возбудителя гриппа способствует переход вируса или его генов в популяцию животных (Кыдырманов, 2009: 52-54; Ataseven, 2007: 199-202; Yuanji, 1992: 245-255; Saenz, 2010: 3974-83).

Вирус гриппа распространен почти во всех странах мира. Важная особенность вируса заключается в том, что он подвержен различным мутациям и из-за этого вспышки болезни могут возникать зачастую непредсказуемо, и даже затрагивать уже привитых лошадей. Вирус

гриппа лошадей обладает способностью к быстрой мутации, что может в свою очередь привести к появлению высококонтагиозных штаммов вируса (Oxburgha, 1999: 161-174; Strochkov, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/JF683499.1>; Oxburgh, 1998: 61 –70).

Известно, что коневодство является традиционной отраслью животноводства в Республике Казахстан, где поголовье лошадей насчитывает более 2259,2 тысяч голов. Поэтому очень важно проводить мониторинговые мероприятия гриппа лошадей с целью выявления очагов заболевания и дальнейшего изучения физико-морфологических характеристик для выявления внешних структурных изменений.

Вирусы гриппа сильно подвержены генетическим изменениям, однако по данным многих исследователей данные изменения не влияют непосредственно на морфологию вириона. Но при частой смене «хозяина» вирус культивируется в различных субстратах (культурах) с соответственно различным липидным составом, что является решающим фактором появления вирионов аномальных размеров и форм, нехарактерных для вируса гриппа.

Материалы и методы исследования

Очистка и концентрирование вируса гриппа лошадей

Для очистки и концентрирования вируса гриппа лошадей использовали метод ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы.

Очистка и концентрирование вируса гриппа лошадей с использованием ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы

Вирусосодержащую аллантоисную жидкость осветляли низкоскоростным центрифугированием при 2100 g в течение 20 мин. при температуре 4° С. Осветленную вирусосодержащую надосадочную жидкость наслаивали на трехступенчатый градиент плотности сахарозы (20-40-60%) и центрифугировали при 106200 g в течение 2 ч при температуре 4° С. Вирус концентрируется между 40 и 60% слоем сахарозы. От сахарозы вирусную суспензию отмывали центрифугированием при 106200 g в течение 30 мин. при температуре 4° С. Осадок ресуспендировали в 0.05 М ФБР, рН 7,2 (Уикли, 1975: 15-58).

Определение морфометрических характеристик изолятов вируса гриппа лошадей

Электронная микроскопия очищенных препаратов вируса гриппа лошадей

Для электронной микроскопии препараты вируса готовили адсорбцией в электростатическом поле тefлоновой пластины на сетки с формваровой подложкой, укрепленной углем. Негативное контрастирование проводили 2%-ным водным раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты и исследовали в электронном микроскопе JEM-100 CX JEOL (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ и увеличении 20000-40000 (Савельев, 1998: 34-48; Гринин, 1971: 11).

Определение морфометрических характеристик вируса гриппа лошадей

Для исследования морфологических и морфометрических характеристик вируса гриппа лошадей использовали очищенные и концентрированные препараты вируса, которые фотографировали при увеличении x200000.

Обсчёт размеров вирионов проводили непосредственно на фотонегативе с помощью специальной шкалы с делением равным 0,1 мм, затем рассчитывали среднюю арифметическую величину и среднее квадратичное отклонение.

Определение основных физических характеристик вируса гриппа лошадей

Изучение плавучей плотности вируса гриппа лошадей

Плавучую плотность вируса определяют путем центрифугирования очищенной вирусной суспензии в преформированном градиенте раствора – хлористого цезия (CsCl), в горизонтальном роторе SW-50.1 ультрацентрифуги Optima L-90K («Beckman-Coulter»).

Преформированный градиент получили путем наслаивания раствора соли концентрацией 30 мас.% в центрифужных пробирках указанного ротора. Вирус наносили поверх градиента. Центрифугирование проводили при скорос-

тях 106000 g в течение 16-18 ч. По окончании центрифугирования содержимое пробирок фракционировали путем отбора фракций снизу. Определяли коэффициент преломления (n). Плотность вычисляли по эмпирической формуле $p_{25} = 10,860 * n_{25} - 13,497$ (при 25°).

Активность вируса гриппа лошадей во фракциях определяют методом титрования в реакции гемагглютинации РГА (Ашмарин, 1959: 22-31).

Значение плавучей плотности в пиках проявления вирусной активности определяют из градуировочных графиков зависимости показателя преломления от плотности раствора соли (Vinograd, 1962: 372-422).

Определение константы седиментации вируса гриппа лошадей

Значение константы седиментации определяют согласно методике описанной в пособии Рефрактометрические методы химии (Июффе, 1974: 12-17).

Результаты исследования

Получение очищенных и концентрированных препаратов вируса гриппа лошадей из вирусосодержащих материалов

Для молекулярно-биологических исследований к качеству вирусного материала предъявляются определенные требования. Вирус должен сохранять целостность структур как при его очистке, так и концентрировании, а также быть свободным от контаминации.

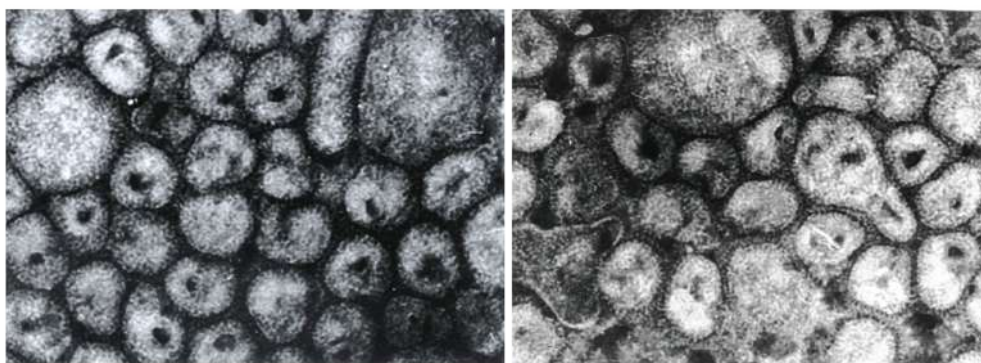
Процесс очистки и концентрирования вирусов до настоящего времени остается многоэтапным и специфическим для каждого конкретного вируса. Универсального способа очистки пригодного для всех вирусов не существует. В процессе очистки от морфологии и физико-химических свойств вирусов выбирается в зависимости от тканей хозяина среды культивирования (Watson, 2011: 35; Murcia, 2010: 6943-54; Alexander, – 2000: 197-225).

При очистке Казахстанских изолятов вируса гриппа лошадей с использованием градиентного ультрацентрифугирования в растворе сахарозы, опалесценция вируса наблюдалась в градиенте плотности между 40 % и 60 % зонами.

Морфометрические характеристики вируса гриппа лошадей

Электронно-микроскопическое изучение морфологии и структуры изолятов вируса гриппа лошадей

Электронно-микроскопический анализ показал отсутствие контаминации посторонними микроорганизмами в очищенных препаратах вируса гриппа лошадей. В процессе очистки вирионы сохраняют свою структуру (рис. 1).



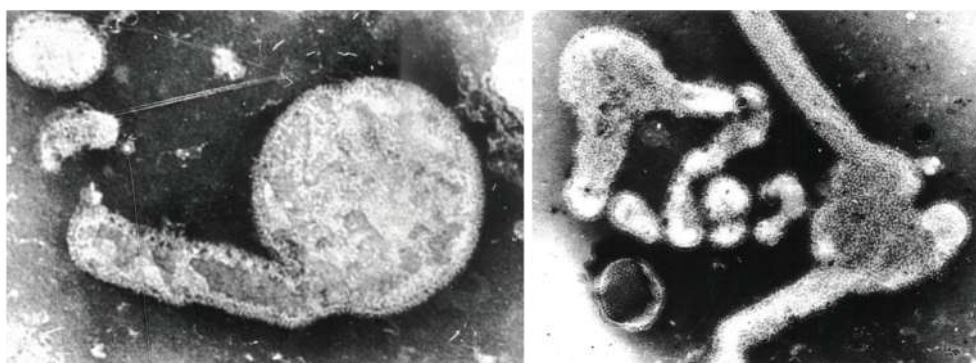
а б
Рисунок 1 – Вирус гриппа лошадей штаммы а) A/equine/Baizak/09/2012 и

б) A/equine/LKZ/09/2012, очищенный методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Ув. х 200 000

По результатам исследований были определены основные морфометрические свойства. Штаммы A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 и A/equine/LKZ/09/2012 вируса гриппа лошадей в популяциях исследованных изолятов имеют в основном круглые и овальные формы. Размер круглых вирионов составляет 70 – 200 нм в диаметре, а длина овальных порядка 100 – 300 нм. Около 72 % популяции изолятов гриппа

лошадей составляют вирионы диаметром 110 – 180 нм. Поверхность вирусных частиц покрыта шипиками высотой 6-8 нм, а толщина наружной оболочки составляет 8,5-9 нм.

Однако в виду генетической изменчивости среди популяции вируса гриппа лошадей у штамма A/equine/LKZ/09/2012 были обнаружены округлые вирионы размерами порядка 450 нм. и нитевидные длиной более 750 нм. (рис. 2).



а б
Рисунок 2 – Вирус гриппа лошадей штамм A/equine/Baizak/09/2012 а) округлой формы

б) нитевидной формы, очищенные методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Ув. х 200 000

Некоторые вирионы с размерами, неприсущими для гриппа лошадей (диаметром порядка 450 нм и нитевидные длиной более 750 нм), были обнаружены при исследовании штамма A/equine/Baizak/09/2012. В популяции нескольких штаммов, наряду с мутантными вирионами, наблюдалось небольшое количество вирионов с разной степенью дезинтеграции. Выхода РНП не наблюдалось.

Определение основных физических констант очищенных препаратов вируса

Определение плавучей плотности вируса гриппа лошадей

Определение плавучей плотности вируса гриппа лошадей имеет большую практическую ценность для постоянного контроля чистоты вирусных препаратов; плотностный анализ ис-

пользуется для изучения природной плотностной гетерогенности мутантов. Кроме того, по величине плавучей плотности можно разделять инфекционные частицы от неинфекционных, если потеря инфекционности связана с утратой части нуклеиновой кислоты или белка, а также других компонентов, например липидов.

При изучении основных физических констант вируса гриппа лошадей проводили исследования по определению плавучей плотности вирионов.

Изучение плотностных характеристик чистых препаратов вируса гриппа лошадей проводили с использованием равновесного (изопикнического) центрифугирования в преформированных градиентах хлористого цезия по общепринятым методикам [20].

При изопикническом центрифугировании вирусы равномерно распределяются во всем объеме раствора (в растворе CsCl). Со време-

нем каждая частица попадает в область, соответствующую ее собственной плавучей плотности. Центрифугирование прекращают, когда устанавливается равновесие.

Полученные фракции анализировали с помощью рефрактометра. Плавучие плотности фракций измеряли, используя таблицу перехода от показателя преломления к плотности (Ландсберг, 1976: 44-46; King, 1971: 465-473; Voou, 1985: 667-676).

Проведенные эксперименты в градиенте плотности хлористого цезия показали, что вирионы гриппа лошадей имеют плавучую плотность в пределах 1,25-1,26 г/см³. Полученная нами величина плавучей плотности вируса гриппа лошадей характерна для других представителей семейства ортомиксовирусов.

Значения плавучей плотности и величины константы седиментации вируса гриппа лошадей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Физические константы очищенных препаратов вируса гриппа лошадей

Штаммы вируса гриппа лошадей	Физические константы	
	Плавучая плотность ρ , г/см ³	Константа седиментации S
A/equine/Baizak/09/2012 Жамбылская область, Байзакский район, село Улгили	1,23	728,0±9,7
A/equine/Kostanai/09/2012 Конный завод ТОО «Казак тулпары», Костанайская область, г. Костанай	1,24	742,0±10,9
A/equine/Matybulak/10/2012 Жамбылская область, Кордайский район, местность Матыбулак	1,23	733,0±4,5
A/equine/LKZ/09/2012 Конный завод ТОО «ЛКЗ» Жамбылская область, Турар Рыскуловский район	1,25	761,0±7,8

Обсуждение результатов

Изучению вирусов предшествует этап очистки и концентрирования из вирусосодержащих материалов. Последовательные этапы градиентного центрифугирования и ультрафильтрации позволяют получить препараты вируса со степенью очистки от балластных белков. Полученные препараты могут быть использованы для изучения структуры и физико-химических свойств вирионов. По результатам электронной микроскопии в исследуемых штаммах A/equine/

Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 и A/equine/LKZ/09/2012 вируса гриппа лошадей установлено, что все они содержат вирусные частицы круглой, овальной и нитевидной формы диаметром от 50 нм до 100 нм и длиной от 100 до 300 нм. Около 67 % популяции изолятов вируса гриппа лошадей составляют вирионы диаметром 50-70 нм. Поверхность вирусных частиц покрыта шипиками диаметром около 3 нм и длиной 5-10 нм. Толщина наружной оболочки вирионов изолятов ВГЛ 4,0 – 5,5 нм.

Исследования показали, что диаметр и длина вирионов штаммов A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 и A/equine/LKZ/09/2012 вируса гриппа лошадей практически одинаковы (50 нм – 70 нм) и соответственно длина (180 нм – 260 нм). Некоторые вирионы с размерами, неприсущими для гриппа лошадей (диаметром порядка 450 нм и нитевидные длиной более 750 нм), были обнаружены при исследовании штамма A/equine/Baizak/09/2012.

Во всех исследованных изолятах вируса гриппа лошадей в популяции преобладают в основном вирионы круглой (95 %) и овальной формы (5 %). Для всех изолятов характерен слабо-выраженный полиморфизм. Полученные нами данные практически совпадают с результатами других исследователей, где содержание круглых частиц варьирует в пределах 90-95 %, и соответственно 5-10 % овальных вирионов (Wrigley, 1979: 35-38; Daly, 1996: 661-671; Сарыглар, 2009: 41-46; Daly, 2004: 411-423, Van Maanen, 2002: 79-94).

Проведенные исследования показали, что исследуемые изоляты практически не отличаются как по морфологии, так и по таким физическим показателям, как плавучая плотность и константа седиментации вириона. Все показатели лежат в области значений, характерных для семейства ортомиксовирусов. Физико-химические свойства вирионов могут быть использованы для контроля чистоты вирусных препаратов, а

также для изучения природной гетерогенности мутантов.

Выводы

В результате выполненных экспериментов и полученных экспериментальных данных можно сделать следующие выводы:

– предложенная схема очистки и концентрирования вируса гриппа лошадей, включающая последовательное градиентное центрифугирование, позволяет получать препараты вируса с высокой степенью очистки;

– определены морфометрические характеристики вирионов штамма A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012 и A/equine/LKZ/09/2012;

– определены физические характеристики очищенных препаратов вируса гриппа лошадей: плавучая плотность и константа седиментации вирионов, значения которых составляют: плавучая плотность $\rho = 1,23-1,25$ г/см³ и константа седиментации $728,0+9,7 - 761,0+7,8$ S;

– исследуемые штаммы вируса гриппа лошадей практически не отличаются как по морфологическим и морфометрическим, так и по физическим характеристикам, за исключением единичных аномальных вирионов, размер которых составлял порядка 450 нм. Полученные физические константы рекомендуется использовать при контроле чистоты вирусных препаратов.

Литература

- 1 Ашмарин И.П. и Воробьев А.А., Статистические методы в микробиологических исследованиях (Москва: 1959), 22-31.
- 2 Гринин А.С. и Титов И.Н., Очистка, концентрирование и фракционирование вирусов животных (Москва: 1971), 11.
- 3 Иоффе Б.В., Рефрактометрические методы химии (Ленинград: Химия, 1974), 12-17.
- 4 Кыдырманов А.И., Кумекбаева Ж.Ж., Карамендин К.О., Даулбаева К.Д., Шахворостова Л.И., Жуматов К.Х., Саятов М.Х., “Изоляция вируса гриппа А (H3N8) от лошадей в Казахстане в 2007 г.,” Ветеринария 5 (2009): 52-54.
- 5 Ландсберг Г.С., Оптика. (Москва: Наука, 1976), 44-46.
- 6 Мильбурн Б., Перспективы развития генетики вируса гриппа: Генетика вирусов гриппа. (1986), 11–31.
- 7 Савельев И.В., Курс общей физики (Москва: Наука, 1998), 34-48.
- 8 Сарыглар Л.К., Коломыцев А.А., Смирнов В.Н., Куулар Р.К., Достай С.М., Муруева Г.Б., “Эпизоотический процесс гриппа лошадей в Бурятии и Тыве в 2008 г., обусловленный вирусом гриппа подтипов Н7 и Н3,” Вет.патология 5 (2009), 41-46.
- 9 Уикли Б., Электронная микроскопия для начинающих (Москва: Мир, 1975), 15-58.
- 10 Юров К.П., Инфекционные и инвазионные болезни лошадей. Грипп (Москва: Колос, 1976), 81-90.
- 11 Alexander D.J., Brown I.H., “Recent zoonoses caused by influenza A viruses,” Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 19 (2000): 197-225.
- 12 Andrewes C.H., Andrewes C.H., Pereira H.G., Wildy P., “Viruses of vertebrates,” 5 (1978): 203–220.
- 13 Ataseven V.S., Daly J.M., “Seroepidemiology of equine influenza virus infection in Turkey,” Turk. J. Vet. Anim. Sci. 31 (2007): 199-202.
- 14 Booy F.P., Ruigrok R.W., van Bruggen E.F., “Electron microscopy of influenza virus. A composition of negatively stained and ice-embedded particles,” J.Mol.Biol. 184 (1985), 667–676.
- 15 Daly J.M., Lai A.C., Binns M.M., Chambers T.M., Barrandeguy M., Mumford J.A., “Antigenetic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses,” Journal of General Virology 77 (1996), 661-671.

- 16 Daly J.M., Newton J.R., Mumford J.A., "Current perspectives on control of equine influenza," *Vet. Res.* 35 (2004) 411-423.
- 17 Dowdle W.R., Yarbrough W.B., Robinson R.A., "U.S. epizootic of equine influenza, Etiology," *Public Health Rep.* 79 (1963): 398.
- 18 Haywardl J.J., Dubovi E.J., Scarlett J.M., Janeczko S., Holmes E.C., Parrish C.R., "Microevolution of canine influenza virus in shelters and its molecular epidemiology in the United State," *J. Virol.* (2010): 12-18.
- 19 King J. and Laemmli U.K., *J. Mol. Biol.*, 62 (1971): 465-473.
- 20 Lief F.S., Cohen D., "Equine influenza. Studies of the virus and of antibody pattern in convalescent, interepidemic and postvaccination sera," *Amer.J.Epidemiol* 82 (1965): 225-226.
- 21 Murcia P.R., Baillie G.J., Daly J., Elton D., Jervis C., Mumford J.A., Newton R., Parrish C.R., Hoelzer K., Dougan G., Parkhill J., Lennard N., Ormond D., Moule S., Whitwham A., McCauley J.W., McKinley T.J., Holmes E.C., Grenfell B.T., WoodIntra J.L., "Interhost evolutionary dynamics of equine influenza virus," *J. Virol.* 84 (2010): 6943-54.
- 22 Oxburgha L. A., HagstroËmb A.Ë., "PCR based method for the identification of equine influenza virus from clinical samples," *Veterinary Microbiology* 67 (1999): 161-174.
- 23 Oxburgh L., Akerblom L., Fridberger T., Klingenborn B., Linne T., "Identification of two antigenically and genetically distinct lineages of H3N8 equine influenza virus in Sweden," *Epidemiol Infect.* 120 (1998): 61–70.
- 24 Saenz R.A., Quinlivan M., Elton D., Macrae S., Blunden A.S., Mumford J.A., Daly J.M., Digard P., Cullinane A., Grenfell B.T., McCauley J.W., Wood J.L., Gog J.R., "Dynamics of influenza virus infection and pathology," *J. Virol* 84 (2010): 3974-83.
- 25 Strohkov V.M., Sandybayev N., Sultankulova K., Chervyakova O. Influenza A virus (A/equine/Otar/764/2007(H3N8)) segment 4 hemagglutinin (HA) gene, complete cds // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JF683499.1>
- 26 Van Maanen C., Cullinane A., "Equine influenza virus infection: an update," *Vet. Q.* 24 (2002), 79-94.
- 27 Vinograd J., Hearst J.E., "Equilibrium sedimentation of macromolecules and viruses in a density gradient," *Fortschr. Chem. Org. Natustoffe* 20 (1962): 372-422.
- 28 Watson J., Haplin K., Selleck P., Axell A., Bruce K., Hansson E., Hammond J., Daniels P., Jeggo M., "Isolation and characterisation of an H3N8 equine influenza virus in Australia," *Aust. Vet. J.* 89 (2011): 35.
- 29 Wrigley N., "Electron microscopy of influenza virus," *Brit.Med. Bull.* 35 (1979) 35–38.
- 30 Yuanji Guo, Min Wang, Yoshihiro Kawaoka, Owen Gorman, Toshihiro Ito, Takehiko Saito, Robert G. Webster, "Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China" *Virology* 188 (1992): 245-255.

References

- 1 Alexander D.J., Brown I.H., "Recent zoonoses caused by influenza A viruses," *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 19 (2000): 197-225.
- 2 Andrewes C.H., Andrewes C.H., Pereira H.G., Wildy P., "Viruses of vertebrates," 5 (1978): 203–220.
- 3 Ashmarin I.P. i Vorob'yev A.A. (1959) *Statisticheskiye metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh* [Statistical methods in microbiological studies]. Moskva, pp. 22-31.
- 4 Ataseven V.S., Daly J.M., "Seroepidemiology of equine influenza virus infection in Turkey," *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31 (2007): 199-202.
- 5 Booy F.P., Ruigrok R.W., van Bruggen E.F., "Electron microscopy of influenza virus. A composition of negatively stained and ice-embedded particles," *J.Mol.Biol.* 184 (1985), 667–676.
- 6 Daly J.M., Newton J.R., Mumford J.A., "Current perspectives on control of equine influenza," *Vet. Res.* 35 (2004) 411-423.
- 7 Daly J.M., Lai A.C., Binns M.M., Chambers T.M., Barrandeguy M., Mumford J.A., "Antigenetic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses," *Journal of General Virology* 77 (1996), 661-671.
- 8 Dowdle W.R., Yarbrough W.B., Robinson R.A., "U.S. epizootic of equine influenza, Etiology," *Public Health Rep.* 79 (1963): 398.
- 9 Grinin A.S. i Titov I.N (1971) *Ochistka, kontsentrirvaniye i fraksionirovaniye virusov zhivotnykh* [Purification, concentration and fractionation of animal viruses]. Moskva, pp. 11.
- 10 Haywardl J.J., Dubovi E.J., Scarlett J.M., Janeczko S., Holmes E.C., Parrish C.R., "Microevolution of canine influenza virus in shelters and its molecular epidemiology in the United State," *J. Virol.* (2010): 12-18.
- 11 Ioffe B.V. (1974) *Refraktometricheskiye metody khimii* [Refractometric methods of chemistry]. Leningrad: Khimiya, pp. 12-17.
- 12 King J. and Laemmli U.K., *J. Mol. Biol.*, 62 (1971): 465-473.
- 13 Kydyrmanov A.I., Kumekbayeva ZH., Karamendin K.O., Daulbayeva K.D., Shakhvorostova L.I., Zhumatov K.KH., Sayatov M.KH. (2009) *Izolyatsiya virusa grippa A (H3N8) ot loshadey v Kazakhstane v 2007 g.* [Isolation of influenza A (H3H8) virus from horses in Kazakhstan in 2007] *Veterinariya*, no 5, pp. 52-54.
- 14 Landsberg G.S. (1976) *Optika* [Optics]. Moskva: Nauka, pp. 44-46.
- 15 Lief F.S., Cohen D., "Equine influenza. Studies of the virus and of antibody pattern in convalescent, interepidemic and postvaccination sera," *Amer.J.Epidemiol* 82 (1965): 225-226.
- 16 Mil'burn B. (1986) *Perspektivy razvitiya genetiki virusa grippa: Genetika virusov grippa* [Prospects for the development of genetics of influenza virus: Genetics of influenza viruses]. pp. 11–31.
- 17 Murcia P.R., Baillie G.J., Daly J., Elton D., Jervis C., Mumford J.A., Newton R., Parrish C.R., Hoelzer K., Dougan G., Parkhill J., Lennard N., Ormond D., Moule S., Whitwham A., McCauley J.W., McKinley T.J., Holmes E.C., Grenfell B.T., WoodIntra J.L., "Interhost evolutionary dynamics of equine influenza virus," *J. Virol.* 84 (2010): 6943-54.
- 18 Oxburgha L. A., HagstroËmb A.Ë., "PCR based method for the identification of equine influenza virus from clinical samples," *Veterinary Microbiology* 67 (1999): 161-174.

- 19 Oxburgh L., Akerblom L., Fridberger T., Klingeborn B., Linne T., "Identification of two antigenically and genetically distinct lineages of H3N8 equine influenza virus in Sweden," *Epidemiol Infect.* 120 (1998): 61–70.
- 20 Saenz R.A., Quinlivan M., Elton D., Macrae S., Blunden A.S., Mumford J.A., Daly J.M., Digard P., Cullinane A., Grenfell B.T., McCauley J.W., Wood J.L., Gog J.R. "Dynamics of influenza virus infection and pathology," *J. Virol* 84 (2010): 3974-83.
- 21 Saryglar L.K., Kolomytsev A.A., Smirnov V.N., Kuular R.K., Dostay S.M., Muruyeva G.B. (2009) Epizooticheskiy protsess grippa loshadey v Buryatii i Tyve v 2008 g., obuslovlennyy virusom grippa podtipov N7 i N3 [Epizootic process of equine influenza in Buryatia and Tuva in 2008, caused by influenza virus subtypes H7 and H3]. *Vet.patologiya*, vol. 5, pp. 41-46.
- 22 Savel'yev I.V. (1998) Kurs obshchey fiziki [General Physics Course]. Moskva: Nauka, pp. 34-48.
- 23 Strochkov V.M., Sandybayev N., Sultankulova K., Chervyakova O. Influenza A virus (A/equine/Otar/764/2007(H3N8)) segment 4 hemagglutinin (HA) gene, complete cds // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JF683499.1>
- 24 Uikli B. (1975) Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh [Electron microscopy for beginners]. Moskva: Mir, pp. 15-58.
- 25 Van Maanen C., Cullinane A., "Equine influenza virus infection: an update," *Vet. Q.* 24 (2002), 79-94.
- 26 Vinograd J., Hearst J.E., "Equilibrium sedimentation of macromolecules and viruses in a density gradient," *Fortschr. Chem. Org. Natustoffe* 20 (1962): 372-422.
- 27 Watson J., Haplin K., Selleck P., Axell A., Bruce K., Hansson E., Hammond J., Daniels P., Jeggo M., "Isolation and characterisation of an H3N8 equine influenza virus in Australia," *Aust. Vet. J.* 89 (2011): 35.
- 28 Wrigley N., "Electron microscopy of influenza virus," *Brit.Med. Bull.* 35 (1979) 35–38.
- 29 Yurov K.P. (1976) Infektsionnyye i invazionnyye bolezni loshadey. Gripp [The equine infectious and invasive diseases. Influenza]. Moskva: Kolos, pp. 81-90.
- 30 Yuanji Guo, Min Wang, Yoshihiro Kawaoka, Owen Gorman, Toshihiro Ito, Takehiko Saito, Robert G. Webster, "Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China" *Virology* 188 (1992): 245-255.

Kolumbayeva S.Zh.¹, Lovinskaya A.V.², Abilev S.K.³, Voronova N.⁴

¹Doctor of Biological Science, professor of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,
e-mail: saule.kolumbayeva@kaznu.kz

²PhD, lecturer of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: annalovinska@rambler.ru

³Doctor of Biological Science, Deputy Director for Science of Vavilov Institute of General Genetics,
Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow, e-mail: abilev@vigg.ru

⁴Candidate of Biological Science, assistant professor of Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: slovonine@mail.ru

**THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE MUTAGENIC ACTION OF
N-NITROSODIMETHYLAMINE IN MICE**

The mutagenic activity of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in the laboratory mice was studied using the chromosome aberration test. It was established that NDMA with intraperitoneal single administration (acute experience) in doses of 2.0; 4.0 and 8.0 mg/kg induced chromosomal aberrations in the mouse bone marrow cells with a frequency statistically significantly exceeding the control level. With an increase in the dose of xenobiotics, the frequency of aberrant cells increased by 2.23 ($p < 0.05$); 3.00 ($p < 0.05$) and 3.89 ($p < 0.001$) times, respectively. The dose dependence of the level of induced mutagenesis was revealed ($r = 0.97$, $p = 0.03$). A statistically significant increase in the level of aneuploid and polyploid cells was established, however, no dose dependence was found ($r = 0.85$, $p = 0.29$). Prolonged intoxication of NDMA (subacute experience, intoxication within 10 days) of experimental animals resulted in a statistically significant increase in the frequency of aberrant bone marrow cells and the number of chromosomal aberrations per 100 metaphase compared to intact animals and animals of acute experience. The dose of NDMA 8 mg/kg, equal to $1/5 LD_{50}$, with repeated administration was lethal for all individuals. With repeated administration of NDMA at doses of 2.0 and 4.0 mg/kg, the frequency of aberrant cells increased statistically significantly in comparison with a single injection of 1.70 ($p < 0.001$) and 1.60 ($p < 0.01$), respectively, and the number of chromosomal aberrations per 100 metaphase is 1.73 ($p < 0.001$) and 1.51 ($p < 0.01$) times. With prolonged exposure to xenobiotic, the frequency of cells with genomic mutations also increased statistically. The increase in the overall frequency of chromosomal aberrations occurred mainly due to chromatin-type disorders. The mutagenic effect of N-nitrosodimethylamine on mice, established in our studies, may be due to an increase in the level of active forms of oxygen and the accumulation of lipid peroxidation products in the tissues of the body. Possible mechanisms of mutagenic and genotoxic action of NDMA can be the enhancement of free radical processes and DNA methylation.

Key words: N-nitrosodimethylamine, mutagenic effect, acute and subacute effects, chromosomal aberrations, genomic mutations.

Колумбаева С.Ж.¹, Ловинская А.В.², Абилев С.К.³, Воронова Н.⁴

¹биология ғылымдарының докторы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің профессоры,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: saule.kolumbayeva@kaznu.kz

²PhD, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің оқытушысы,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: annalovinska@rambler.ru

³биология ғылымдарының докторы, Н.И. Вавилов атындағы Жалпы генетика институтының
зерттеу жөніндегі директордың орынбасары, Ресей, Мәскеу қ., e-mail: abilev@vigg.ru

⁴биология ғылымдарының кандидаты, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің доценті,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: slovonine@mail.ru

Тышқандарға нитрозодиметиламиннің мутагендік әсерін тәжірибелік зерттеу

НДМА-ны 2,0; 4,0 және 8,0 мг/кг мөлшерінде бір реттік ішастарішілік енгізгенде тышқандардың сүйек кемігінің клеткаларында хромосомалық абerrациялардың жиілігі бақылау

деңгейінен статистикалық маңыздылығы жоғары екендігі анықталды. Ксенобиотиктің мөлшері артқан сайын аберрантты клеткалардың жиілігі 2,23 ($p < 0,05$); 3,00 ($p < 0,05$) және 3,89 ($p < 0,001$) есе сәйкес жоғарылады. Индукцияланған мутагенез деңгейінің мөлшерлік тәуелділігі анықталды, корреляция коэффициенті $r = 0,97$, $p = 0,03$ болғанда. Анеуплоидты және полиплоидты клеткалар деңгейінің статистикалық маңыздылығы жоғары болғаны анықталды, бірақ мөлшерлік тәуелділігі анықталмады (корреляция коэффициенті $r = 0,85$, $p = 0,29$ болғанда). Қалыпты және бір реттік уландырылған жануарлармен салыстырылғанда тәжірибелік жануарларды НДМА-мен ұзақ уландыру (10 күн бойы) сүйек кемігінің клеткаларында аберрантты клеткалар жиілігінің және 100 метафазалардағы хромосомалық аберрациялар жиілігінің статистикалық маңыздылығы жоғары болғаны анықталды. НДМА-ның 8 мг/кг мөлшері, $1/5 \Delta D_{50}$ тең, көп реттік енгізгенде барлық дарабастарға летальды болды. НДМА-ны 2,0 және 4,0 мг/кг мөлшерінде көп реттік енгізгенде бір реттікпен салыстырылғанда аберрантты клеткалар жиілігінің статистикалық маңыздылығы 1,70 ($p < 0,001$) және 1,60 ($p < 0,01$) есе сәйкес, ал 100 метафазалардағы хромосомалық аберрациялар жиілігінің статистикалық маңыздылығы 1,73 ($p < 0,001$) және 1,51 ($p < 0,01$) есе сәйкес жоғары болғаны анықталды. Ксенобиотиктің ұзақ әсерінде геномдық мутациялары бар клеткалар жиілігінің статистикалық маңыздылығы артты. Хромосомалық аберрациялардың жалпы жиілігінің артуы хроматидті типтердің бұзылыстарына байланысты. Тышқандарға нитрозодиметиламиннің мутагенді әсері организмнің ұлпаларында оттегінің белсенді формаларының деңгейінің жоғарылауына және майлардың асқынотығы өнімдерінің жинақталуына байланысты болуы мүмкін. НДМА-ның мутагендік және генотоксикдік әсерінің мүмкіндік механизмдері бос радикалды үдерістердің және ДНК-ның метилденуінің күшеюіне байланысты болуы мүмкін.

Түйін сөздер: нитрозодиметиламин, мутагендік нәтиже, бір және көп реттік әсер, хромосомалық аберрациялар, геномдық мутациялар.

Колумбаева С.Ж. ¹, Ловинская А.В. ², Абилев С.К. ³, Воронова Н. ⁴

¹доктор биологических наук, профессор Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: saule.kolumbayeva@kaznu.kz

²PhD, преподаватель Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: annalovinska@rambler.ru

³доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, г. Москва, e-mail: abilev@vigg.ru

⁴кандидат биологических наук, доцент Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: slovonine@mail.ru

Экспериментальное исследование мутагенного действия нитрозодиметиламина на мышцах

Изучена мутагенная активность нитрозодиметиламина (НДМА) в организме лабораторных мышей с использованием теста по учету хромосомных аберраций. Установлено, что НДМА при внутрибрюшинном однократном введении (острый опыт) в дозах 2,0; 4,0 и 8,0 мг/кг индуцировал в клетках костного мозга мышей хромосомные аберрации с частотой, статистически значимо превышающей контрольный уровень. С увеличением дозы ксенобиотика возрастала и частота аберрантных клеток в 2,23 ($p < 0,05$); 3,00 ($p < 0,05$) и 3,89 ($p < 0,001$) раза, соответственно. Выявлена дозовая зависимость уровня индуцированного мутагенеза, коэффициент корреляции $r = 0,97$ при $p = 0,03$). Установлено статистически значимое увеличение уровня анеуплоидных и полиплоидных клеток, однако, дозовой зависимости не выявлено (коэффициент корреляции $r = 0,85$ при $p = 0,29$). Длительная интоксикация НДМА (подострый опыт, интоксикация в течение 10 дней) экспериментальных животных привела к статистически значимому увеличению частоты аберрантных клеток костного мозга и числа хромосомных аберраций на 100 метафаз по сравнению с интактными животными и животными острого опыта. Доза НДМА 8 мг/кг, равная $1/5 \Delta D_{50}$, при многократном введении оказалась летальной для всех особей. При многократном введении НДМА в дозах 2,0 и 4,0 мг/кг частота аберрантных клеток статистически значимо возросла по сравнению с однократным введением соответственно в 1,70 ($p < 0,001$) и 1,60 ($p < 0,01$) раза, а число хромосомных аберраций на 100 метафаз – в 1,73 ($p < 0,001$) и 1,51 ($p < 0,01$) раза. При длительном воздействии ксенобиотика статистически значимо возросла и частота клеток с геномными мутациями. Увеличение общей частоты хромосомных аберраций происходило главным образом за счет нарушений хроматидного типа. Мутагенное действие нитрозодиметиламина на мышечной ткани, установленное в наших исследованиях, может быть обусловлено увеличением уровня активных форм кислорода и накоплением продуктов перекисного окисления липидов в тканях организма. Возможными механизмами мутагенного и генотоксического действия НДМА может быть усиление свободнорадикальных процессов и метилирование ДНК.

Ключевые слова: нитрозодиметиламин, мутагенный эффект, острое и подострое воздействие, хромосомные аберрации, геномные мутации.

Introduction

Pollution of the biosphere by different mutagenic factors attracts more and more attention of researchers. Every year, thousands of new artificially synthesized chemical compounds appear that are widely used by man in everyday life. According to the register Chemical Abstracts Service (CAS) of February, 2018, more than 140 million chemical compounds were registered. The daily CAS register replenishes about 15,000 new substances (CAS, 2018). However, not all of them are evaluated for toxic, mutagenic and carcinogenic activity (Abilev, 2015: 169-182). Increase in environmental pollution of xenobiotics can lead to an increase in the mutational background of populations, including humans. Unfortunately, to date unambiguous qualitative criteria for estimating the incidence of mutations in populations have not been developed (Abilev, 2015: 169-182; Geras'kin, 2010: 66-68).

As a result of the activities of the Baikonur Cosmodrome, significant areas of Kazakhstan are under the negative influence of rocket fuel components and its transformation products, which affect the environmental and public health status. The main component of rocket fuel used at the Baikonur Cosmodrome is unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH, heptyl) due to its high energy intensity. According to the monitoring complex studies, the content of the unsymmetrical dimethylhydrazine and its transformation products, in particular N-nitrosodimethylamine (NDMA), in places of carrier-rocket part fall, exceeds the maximum permissible concentration (MPC) in environmental objects (Adushkin, 2000: 10-15; Aidosova, 2005: 131-134; Bakaikina, 2018: 1-20; Batyrbekova, 2007: 12-17; Kalaev, 2004: 1-80; Kasimov, 2006: 668-670; Kenesov, 2012: 78-85; Musa, 2015: 26-29; Panin, 2006: 124-131; Shoikhet, 2005: 1-188). In the scientific literature, there are quite contradictory data on the genotoxicity of UDMH and its oxidation products, but their toxic effects are well known. Therefore, the study of genotoxicity of rocket fuel components and its transformation products does not lose its relevance.

NDMA is one of the oxidation products of unsymmetrical dimethylhydrazine. NDMA is more stable in soil and water, more toxic and mutagenic than UDMH (Bradley, 2005: 115-120). The natural synthesis of N-NDMA in the environment occurs with a high concentration of amines, nitrites and nitrates, which, upon entering into the nitrosation reaction, turn into NDMA (Liteplo, 2002: 1-45;

Osipenko, 2005a: 5-9; Rodin, 2008: 1039-1044). NDMA is a carcinogenic nitrosamine and has a high toxic, mutagenic, teratogenic and embryotoxic effect. NDMA is widely used in the foundry industry, in the production of rubber, rocket fuel, pesticides, dyes, in tanning leather, in the food industry. NDMA can be formed in sewage as a result of biological and chemical transformations of alkylamines. Tobacco smoke is also a source of NDMA. Synthesis of NDMA occurs in the human stomach acids after eating a food rich in nitrites, secondary or tertiary amines, as well as certain medications (Guidelines for..., 2011: 1-39; N-nitrosodimethylamine..., 2008: 1-37; Osipenko, 2005a: 5-9).

NDMA led to the methylation of nucleic acids with the formation of mainly N⁷-methylguanine, partially O⁶-methylguanine and N³-methyladenine. In a small volume, methylated derivatives of proteins and nucleic acids were found in the kidneys, spleen, pancreas, brain and other organs (Osipenko, 2005b: 20-23).

Tumor formation was observed in different animals with intoxicated NDMA (Madden, 2003: 672-676; Osipenko, 2005a: 5-9). NDMA increased the incidence of tumors of hepatocytes and Leydig cells in rats. An increase in malignant neoplasms was observed at a concentration of NDMA in drinking water from 0.01 to 5 mg/L (Guidelines for..., 2011: 1-39). With intraperitoneal and intragastric administration of NDMA to pregnant female of rats and mice, the incidence of liver and urinary tract tumors in offspring increased (Madden, 2003: 672-676; Osipenko, 2005a: 5-9). According to Agency for Research on Cancer (IARC), NDMA is classified in Group 2A (probable human carcinogen) (N-nitrosodimethylamine..., 2008: 1-37).

NDMA has high mutagenic activity under *in vitro* and *in vivo* conditions. It has been established that NDMA induces mutations detected in the Ames test, gene and chromosomal aberration assays, sister chromatid exchanges, unplanned DNA synthesis, mutations of transgenic rodents, on *mammalian in vitro micronucleus test*. *In vitro* Comet assay has shown the genotoxic effects of N-nitrosodimethylamine only at high concentrations in human hepatoma cell lines, primary hepatocyte culture, and TK6 lymphoblastoid cell line (Hobbs, 2015, 172-181; Liviach, 2011: 613-618; National Toxicology..., 2018; Ooka, 2016: 1901-1907; Wagner, 2012: 109-115; Watanabe, 2001: 57-63). *In vivo* Comet assay has shown the genotoxic effects of NDMA in different tissues, including liver of rats, as well as liver and stomach of mice (Hobbs, 2015, 172-181).

In connection with the biological effect of NDMA, low MPCs in the air of industrial premises (0.01 mg/m^3) and water in reservoirs (0.001 mg/L) were established. The biological essence of the influence of even these concentrations in humans and animals is still not entirely clear (Osipenko, 2005c: 5-12). Therefore, a comprehensive study of the toxic, genotoxic and mutagenic effects of NDMA on the somatic and sex cells of mammals, as well as the mechanisms of meiosis, leading to sterility and infertility, is extremely urgent. The obtained information will allow to conduct a purposeful search for means of protection of the organism.

Materials and methods

The objects were laboratory mice of the BALB/cYwal line, widely used in cytogenetic studies. N-Nitrosodimethylamine (NDMA, $(\text{CH}_3)_2\text{N}_2\text{O}$) was used as the test chemical compounds. In total, 35 laboratory male mice 2-3 months old with body weight of 25-30 g were used in the experiments. Intact and experimental animals were kept in a vivarium on a standard diet. Care for laboratory animals was carried out in accordance with international principles (Guide for the Care..., 2011: 1-246).

For the intoxication of animals, aqueous solutions of NDMA were used. The introduction of xenobiotic was performed intraperitoneally. Dosages were selected based on the available information on LD_{50} for mice with intraperitoneal administration of NDMA (40.0 mg/kg) (Lijinsky, 2011: 1-482). All animals were divided into 7 groups (I-VII) of 5 individuals in each: group I - intact animals; groups II-IV - animals that received NDMA in a single dose of 2.0; 4.0 and 8.0 mg/kg, respectively (acute effect); groups V-VII are animals that received NDMA doses of 2.0; 4.0 and 8.0 mg/kg, respectively, daily for 10 days (subacute effect). The animals were sacrificed under isoflurane anesthesia.

The Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration test was carried out according to the standard technique (Rukovodstvo..., 1989: 108-124). Before slaughtering, the weight of each mouse was determined and injected in mouse 0.04% colchicine solution intraperitoneally at a dose of 1 ml/100 mg body weight. 1.5-2 hours after the colchicine injection, the mice were sacrificed and the bone marrow was flushed out of the bone with a hypotonic solution of potassium chloride (0.56%) heated to 37°C . The washed bone marrow was carefully resuspended to homogenize the cell

suspension. After hypotonic treatment, the cell suspension was centrifuged for 5 minutes at 1000 rpm. The precipitate was fixed in a mixture of methanol and glacial acetic acid (3: 1). The fixed cells were resuspended in a fixator and the suspension was applied to cooled wet slide glasses. To color the chromosome preparations, the Azure-Eosin dye was used according to Romanovsky-Giemsa. Cytological preparations were analysed and captured using light microscopes Axioskop-40 (CarlZeiss, Germany) and OlympusBX 43 (Olympus, Japan). Genomic and structural disorders of chromosomes were analysed using the metaphase method (Rukovodstvo..., 1989: 108-124; Nemtseva, 1970: 1-126).

Statistical data processing was performed using the Microsoft Excel add-in program "Analysis ToolPak". In all variants, the mean value and standard errors of the mean were determined. The significance of the mean differences was evaluated using the Student's parametric test. Differences were considered reliable with a confidence level of 95% or higher ($p < 0.05-0.01$). To determine the correlation dependence, the Pearson correlation coefficient (r) was calculated.

Results and discussion

The results of a cytogenetic study of experimental animals subjected to acute (single) and subacute (daily for 10 days) exposure to N-nitrosodimethylamine (NDMA) are presented in the table.

NDMA under the acute influence at all used doses induced chromosome aberrations in the mouse bone marrow cells with a frequency exceeding the control level. The level of structural rearrangements of chromosomes in animals of II-IV groups, intoxicated with NDMA in doses of 2.0; 4.0 and 8.0 mg/kg of body weight, statistically significantly increased in 2.23 ($p < 0.05$); 3.00 ($p < 0.05$) and 3.89 ($p < 0.001$) times as compared with the control. Along with the overall frequency of aberrant cells, the number of chromosomal aberrations per 100 metaphase, due to the lesion of more than one chromosome in one cell, also increased significantly. The number of chromosomal aberrations per 100 metaphase seen in animals of II-IV groups was statistically significantly higher than the control level of 2.27 ($p < 0.01$), 3.03 ($p < 0.001$) and 3.95 ($p < 0.001$) respectively.

Qualitative composition of structural mutations in control and experimental animals was represented by disorders of both chromosomal and chromatid types. The main disorders of the chromosome type were represented by paired

end fragments, and the chromatid type by single deletions. As a result of acute exposure in animals of II-IV groups, which received respectively NDMA in doses of 2.0; 4.0 and 8.0 mg/kg, the number of chromosomal aberrations per 100

metaphase increased by 2.45; 2.00 and 2.95 ($p < 0.001$) times, and the number of chromatid type aberrations per 100 metaphase grown in 4.06 ($p < 0.001$); 6.65 ($p < 0.001$) and 8.94 ($p < 0.001$) times, respectively.

Table – Frequency and spectrum of structural chromosomal aberrations induced in the bone marrow cells of laboratory mice at different doses and times of N-nitrosodimethylamine exposure

Experiment type	Types of effect	Number of cells analyzed	Frequency of aberrant cells ($M \pm m$), %	Number of chromosomal aberrations per 100 metaphases				Frequency of genomic mutations, ($M \pm m$), %	
				number of aberrations	chromosomal type	chromatid type	point fragments	aneuploid cells	polyploidy cells
Control		995	0.91±0.19	1.11±0.19	0.20±0.12	0.31±0.13	0.60±0.09	0.40±0.18	0.30±0.12
NDMA 2.0 mg/kg	acute effect	1030	2.03±0.23**	2.52±0.29**	0.49±0.22	1.26±0.12***	0.77±0.18	1.08±0.19**	1.83±0.34***
	subacute effect	1010	3.46±0.10***	4.35±0.14***	0.50±0.01*	2.57±0.17***	1.28±0.11**	2.09±0.21***	2.87±0.16***
NDMA 4.0 mg/kg	acute effect	1020	2.73±0.21**	3.34±0.24***	0.40±0.18	2.06±0.18***	0.88±0.18	1.00±0.24	1.76±0.17***
	subacute effect	1025	4.38±0.26***	5.06±0.52***	0.77±0.28	2.63±0.18***	1.65±0.18***	3.51±0.25***	4.48±0.35***
NDMA 8.0 mg/kg	acute effect	1015	3.54±0.11***	4.34±0.19***	0.59±0.08*	2.77±0.26***	0.98±0.15	1.70±0.29**	2.37±0.20***

* - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ as compared with control

A comparative analysis of the level of aberrant cells and the number of chromosomal aberrations per 100 metaphases in animals exposed to acute exposure revealed a dose dependence of the level of induced mutagenesis. An increase in the dose of xenobiotic to 8 mg/kg resulted in a statistically significant increase in all the studied indicators ($r = 0.97$, $p = 0.03$).

The level of polyploid cells under the influence of xenobiotic at all 3 doses used also increased statistically. However, an increase in metaphase with aneuploid sets of chromosomes was statistically significant only at exposure to doses of 2.0 and 8.0 mg/kg. Under the influence of NDMA, the level of polyploid cells increased in animals of II-IV groups, respectively, 6.10 ($p < 0.01$); 5.87 ($p < 0.001$) and 7.90 ($p < 0.001$) times in comparison with the animals of group I. There was no dose response in the induction of polyploid cells ($r = 0.85$, $p = 0.29$).

As a result of prolonged exposure to NDMA (subacute experience, intoxication within 10 days) in the experimental mice showed an increase in all the studied quantitative indicators compared with

control and acute experience (table). However, a dose of 8 mg/kg of NDMA, equal to 1/5 LD50, was lethal to all animals.

The frequency of aberrant cells was statistically significantly increased in comparison with acute experience in animals of the V and VI groups in 1.70 ($p < 0.001$) and 1.60 ($p < 0.01$) times, and the number of chromosomal aberrations per 100 metaphase increased by 1, 73 ($p < 0.001$) and 1.51 ($p < 0.01$) times, respectively. Also, with prolonged exposure, the frequency of cells with genomic mutations increased significantly. The level of aneuploid and polyploid metaphases in animals of group V in comparison with animals of group II, respectively, increased in 1.94 ($p < 0.01$) and 1.57 ($p < 0.05$) times, and in group VI in comparison with animals of group III grown in 3.51 ($p < 0.001$) and 2.55 ($p < 0.001$) times, respectively.

The spectrum of structural chromosomal abnormalities in animals exposed to prolonged exposure to NDMA was represented by chromosome and chromatid rearrangements, dotted fragments. Disorders of the chromosome type were represented by

paired end fragments and centric rings, and the chromatid type by single fragments and acentric rings. In multi-aberrant cells, point fragments and single discontinuities of chromatids were simultaneously observed. The increase in the overall frequency of chromosomal aberrations occurred mainly due to chromatin-type disorders.

The revealed genotoxic effects of N-nitrosodimethylamine in mice are consistent with the results of a number of studies conducted *in vitro* and *in vivo*. It was found that NDMA induces mutations detected in the Ames test, tests on the inclusion of gene and chromosomal mutations, sister chromatid exchanges, unplanned DNA synthesis, mutations of transgenic rodents, micronucleus test on bone marrow cells and peripheral reticulocytes of mammals line Hobbs, 2015, 172-181; Liviach, 2011: 613-618; National Toxicology..., 2018; Ooka, 2016: 1901-1907; Wagner, 2012: 109-115; Watanabe, 2001: 57-63).

A number of studies have shown that NDMA is a promutagen and a pro-carcinogen, so it requires metabolic activation. Metabolism of NDMA suggests either α -hydroxylation or denitrogenation from nitrosamines. In both ways, as a result of cytochrome CYP2E1, the same intermediate $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{NBN}=\text{O}]$ is formed. Subsequently, when the metabolism passes through α -hydroxylation, hydroxymethylnitrosamine $[\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{OH})\text{N-N}=\text{O}]$ is formed, which decomposes into formaldehyde and monomethylnitrosamine ($\text{CH}_3\text{NHN}=\text{O}$). Monomethyl nitrosamine, due to its instability, undergoes transformation into a strongly methylated methyl diazonium ion ($\text{CH}_3\text{H}^+\equiv\text{N}$), which can alkylate biological macromolecules such as DNA, RNA and proteins. It is believed that by the α -hydroxylation the active metabolites responsible for the genotoxicity and carcinogenicity of NDMA are formed. Metabolic transformations of the intermediate radical through denitrolylation lead to the formation of methylamine (CH_3NH_2) and formaldehyde (Guidelines for..., 2011: 1-39).

N-Nitrosodimethylamine is a simple methylating agent of the SN_1 type, which requires the activation of the metabolism in order to generate its DNA-active intermediate (probably the methyl diazonium ion). The main enzyme for this biotransformation is P450IIE1, which finds at the greatest activity in

the liver. The main adduct of DNA formed after the action of N-nitrosodimethylamine is N^7 -methylguanine (N^7 -MEG), accounting for approximately 70% of the total amount of DNA methylation (Souliotis, 2002: 75-87). Given the high level of formation and relatively slow repair, N^7 -MEG can accumulate in DNA upon repeated exposure to methylating carcinogens, including NDMA.

Another DNA adduct generated by NDMA is O^6 -methylguanine, which is formed about 10 times less frequently than N^7 -MEG (Ooka, 2016: 1901-1907; Souliotis, 2002: 75-87). This adduct plays an important role in mutagenesis, carcinogenesis and cytotoxicity of methylating agents of SN_1 type. Apparently, the cytotoxicity of the methylating agents is the result of the induction of disturbances in the repair of replication errors, which leads to multiple DNA ruptures and apoptosis. Other DNA-induced adducts induced by NDMA are N^3 -methyladenine (3% of all induced adducts), O^4 -methylthymine (<0.1%), and a number of other minor adducts (Souliotis, 2002: 75-87). N^7 -methylguanine as a result of depurination can lead to the replacement of guanine by thymine, O^6 -methylguanine to replace G: C by A: T pairs, O^4 -methylthymine to replace A: T by G: C pairs (Abilev, 2015: 40-41).

Thus, N-nitrosodimethylamine at all doses and exposure periods to mice produced a pronounced mutagenic effect, manifested in a statistically significant increase in the frequency of structural and genomic mutations. With an increase in the duration of exposure to xenobiotics in laboratory mice, the level of induced mutagenesis increased. The mutagenic effect of N-nitrosodimethylamine on mice, established in our studies, may be due to an increase in the level of active forms of oxygen and the accumulation of lipid peroxidation products in the tissues of the body. This leads, ultimately, to methylation and/or oxidative degradation of DNA and nitrogenous bases. Metabolic activation of NDMA by CYP2E1, and hence further enhancement of lipid peroxidation, also leads to methylation and alkylation of DNA. Therefore, the possible mechanisms of mutagenic and genotoxic action of NDMA can be the enhancement of free-radical processes and DNA methylation.

References

- 1 Abilev S.K., and V.M. Glazer. Mutagenез s osnovami genotoksikologii [Mutagenesis with the Basics of Genotoxicology] (Moscow; Saint Petersburg: Nestor-Istoriya, 2015), 1-304 (In Russian).
- 2 Adushkin V.V., S.I. Kozlov, and A.V. Petrov, Ekologicheskie problemy i riski vozdeistviya raketno-kosmicheskoi tekhniki na okruzhayushchuyu prirodnyuyu sredu [Environmental Problems and Risks of the Impact of Rocket-Space Technology on the Environment.] (Moscow: Ankil, 2000), 10-15 (In Russian).

- 3 Aidosova, S.S., A.B. Akhmetova, N.D. Dolgova, and B. Kenesov. «Issledovanie sodержaniya nesimmetrichnogo dimetilgidrazina v probakh pochv i rastenii» [Study of the content of unsymmetric dimethylhydrazine in soil and plant testing] Vestnik KazNU. Seriya khimicheskaya. 37 (2005): 131–34 (In Russian).
- 4 Bakaikina N.V., B. Kenesov, N. Ul'yanovskii, and D.S. Kosyakov. «Quantification of transformation products of rocket fuel unsymmetrical dimethylhydrazine in soils using SPME and GC-MS» Talanta. 2018: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.047>
- 5 Batyrbekova S.E. «Ekologicheskoe Sostoyanie Maloispol'zuemykh Raionov Padeniya Raketonositelei» [Ecological State of Low-Used places of carrier-rocket part fall] Vestnik KazNU. Seriya khimicheskaya. 49 (2007): 12–17 (In Russian).
- 6 Bradley, P.M., S.A. Carr, R.B. Baird, and F.H. Chapelle. «Biodegradation of N-Nitrosodimethylamine in soil from a water reclamation facility» Bioremediation Journal 9 (2005): 115–20.
- 7 CAS - Chemical Abstracts Service, 2018. Available from: <http://www.cas.org/>.
- 8 Geras'kin S.A., E.A. Sarapul'tseva, and L.V. Tsatsenko. Biologicheskii kontrol' okruzhayushchei sredy. Geneticheskii monitoring [Biological control of environment. Genetic monitoring] (Moscow: Akademiya, 2010), 66-68 (In Russian).
- 9 Guide for the care and use of laboratory animals (Washington: The National Academic Press, 2011), 1-246.
- 10 Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document N-Nitrosodimethylamine (NDMA) (Ottawa: Health Canada, 2011): 1-39.
- 11 Kalaev, V.N., and S.S. Karpova. 2004. Tsitogenicheskii monitoring: metody otsenki zagryazneniya okruzhayushchei sredy i sostoyaniya geneticheskogo apparata organizma [Cytogenetic Monitoring: methods for evaluating pollution of the environment and the condition of the genetic organism apparatus] (Voronezh: Izd-vo VGU, 2004), 1-80 (In Russian).
- 12 Kasimov, N.S., P.P. Krechetov, and T.V. Koroleva. «Eksperimental'noe izuchenie povedeniya raketnogo topliva v pochvakh» [Experimental study of the behavior of rocket fuel in soils]. Doklady RAN 408 (2006): 668–70 (In Russian).
- 13 Kenesov B., M. Alimzhanova, Ye. Sailaukhanuly, N. Baimatova, M. Abilev, S. Batyrbekova, L. Carlsen, A. Tulegenov, and M. Nauryzbayev. «Transformation products of 1,1-dimethylhydrazine and their distribution in soils of fall places of rocket carriers in Central Kazakhstan» Science of the Total Environment 427-428 (2012): 78–85.
- 14 Lijinsky W. Chemistry and Biology of N-nitroso-compounds (Cambridge: Cambridge Monographs on Cancer Research, 2011), 1-482.
- 15 Liteplo R.G., Meek M.E., Windle W. N-Nitrosodimethylamine - Concise International Chemical Assessment Document 38 (Geneva: World Health Organization, 2002), 1-45.
- 16 Liviac, D., A. Creus, and R. Marcos. «Genotoxic Evaluation of the Non-Halogenated Disinfection by-Products Nitrosodimethylamine and Nitrosodiethylamine» Journal of Hazardous Materials 185 (2011): 613–18.
- 17 Madden, J., P. Yertman, and J. Davis. «Dimethylnitrosamine induce hepatic cirrhosis in the dog: a histological study» Surgery 264 (2003): 672–76.
- 18 Musa K.Sh., and P.Kh. Abdrazak «The impact of the cosmodrome «Baikonur» on the environment and human health» International Journal of Biology and Chemistry 8 (2015): 26-9.
- 19 National Toxicology Program Database. Available from: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~82bjlt:1>.
- 20 Nemtseva L.S. Metafaznyi metod ucheta perestroek khromosom [Metaphase chromosome aberration method] (Moscow: Nauka, 1970), 1-125 (In Russian).
- 21 N-Nitrosodimethylamine in Drinking-Water. (Geneva: World Health Organization, 2008), 1-37.
- 22 Ooka, M., H. Takazawa, Sh. Takeda, and K. Hirota. «Cytotoxic and genotoxic profiles of benzo[a]pyrene and n-nitrosodimethylamine demonstrated using DNA repair deficient DT40 cells with metabolic activation» Chemosphere 144 (2016): 1901–7.
- 23 Osipenko, B.G., and L.O. Polyakova. «Nitrozodimetilamin – gepatotropnyi yad i kantserogen: toksikologo-gigienicheskie aspekty ego biologicheskogo deistviya (soobshchenie 1)» [N-Nitrosodimethylamine is hepatotropic poison and carcinogen: toxicological-hygienic aspects of its biological action (report 1).] Sibirskii meditsinskii zhurnal 53 (2005a): 5–9 (In Russian).
- 24 Osipenko, B.G., and L.O. Polyakova. «Nitrozodimetilamin – gepatotropnyi yad i kantserogen: ostroe i podostroe otravlenie, biokhimicheskie aspekty (soobshchenie 3)» [N-Nitrosodimethylamine is hepatotropic poison and carcinogen: acute and subacute poisoning, biochemical aspects (report 3)]. Sibirskii meditsinskii zhurnal 55 (2005b.): 20–23 (In Russian).
- 25 Osipenko, B.G., and L.O. Polyakova. «Nitrozodimetilamin – gepatotropnyi yad i kantserogen: kliniko-patomorfologicheskaya kartina otravleniya (soobshchenie 2)» [N-Nitrosodimethylamine is hepatotropic poison and carcinogen: a clinico-pathomorphologic poisoning picture (report 2).] Sibirskii meditsinskii zhurnal 54 (2005c): 5–12 (In Russian).
- 26 Panin, L.E., and A.Yu. Perova. «Mediko-sotsial'nye i ekologicheskie problemy ispol'zovaniya raket na zhidkom toplive (geptil)» [Medico-social and ecological problems of use a liquid fuel rocket (heptyl)] Byulleteno SO RAMN 119 (2006): 124–31 (In Russian).
- 27 Rodin, I.A., D.N. Moskvina, A.D. Smolenkov, and O.A. Shpigun. «Prevrashcheniya nesimmetrichnogo dimetilgidrazina v pochvakh» [Transformations of unsymmetric dimethylhydrazine in soils] Zhurnal fizicheskoi khimii 82 (2008): 1039–44 (In Russian).
- 28 Rukovodstvo po kratkosrochnym testam dlya vyyavleniya mutagenykh i kantserogenykh khimicheskikh veshchestv: Gigienicheskie kriterii sostoyaniya okruzhayushchei sredy 51. [Guidelines for short-term tests for detection of mutagenic and carcinogenic chemical substances: hygienic criteria for the state of the environment] (Moscow: Meditsina, 1989), 108-124 (In Russian).
- 29 Shoikhet, Ya.N., S.V. Bogdanov, V.B. Kolyado, and L.N. Trunova. Zabolevaemost' naseleniya territorii, prilgayushchikh raionam padeniya otdeleyayushchikh raket-nositelei [Incidence of territory's population surrounding fall areas of rocket carriers] (Barnaul: GUNII RMEP, 2005), 1-188 (In Russian).
- 30 Souliotis V.L., J.R. Henneman, C.D. Reed, S.K. Chhabra, B.A. Diwan, L.M. Anderson, and S.A. Kyrtopoulos. «DNA adducts and liver DNA replication in rats during chronic exposure to N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and their relationships to the dose-dependence of NDMA hepatocarcinogenesis» Mutation Research 500 (2002): 75–87.

31 Wagner E.D., K.-M. Hsua, A. Lagunas, W.A. Mitch, M.J.Plewa. «Comparative genotoxicity of nitrosamine drinking water disinfection byproducts in Salmonella and mammalian cells» *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 741 (2012): 109–15.

32 Watanabe, S., and Yu. Kamiguchi. «Chromosome analysis of human spermatozoa following in vitro exposure to cyclophosphamide, benzo(a)pyrene and N-Nitrosodimethylamine in the presence of rat liver S9» *Mutation Research*. 491 (2001): 57–63.

Литература

- 1 Абилев С.К., Глазер В.М. 2015. Мутагенез с основами генотоксикологии. – М.; СПб.: Нестор-История, 2015. – 304 с.
- 2 Адушкин В.В., Козлов С.И., Петров А.В. Экологические проблемы и риски воздействия ракетно-космической техники на окружающую природную среду. – М.: Анкил, 2000. – 10-15 с.
- 3 Айдосова С.С., Ахметова А.Б., Долгова Н.Д., Кенесов Б. Исследование содержания несимметричного диметилгидразина в пробах почв и растений // *Вестник КазНУ. Серия химическая*. – 2005. – Т. 37, №1. – С.131–134.
- 4 Батырбекова С.Е. Экологическое состояние малоиспользуемых районов падения ракетносителей // *Вестник КазНУ. Серия химическая*. – 2007. – Т. 49, №5. – С. 12–17.
- 5 Гераськин С.А., Сарапульцева Е.А., Цаценко Л.В. Биологический Контроль Окружающей Среды. Генетический Мониторинг. – М.: Академия: 2010. – С. 66-68.
- 6 Калаев В.Н., Карпова С.С. 2004. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2004. – 80 с.
- 7 Касимов Н.С., П.П. Кречетов, Королева Т.В. Экспериментальное изучение поведения ракетного топлива в почвах // *Доклады РАН*. – 2006. – Т.408, №5. С. 668–670.
- 8 Немцева Л.С. 1970. Метафазный метод учета перестроек хромосом. – М.: Наука, 1970. – 125 с.
- 9 Осипенко Б.Г., Полякова Л.О. нитрозодиметиламин – гепатотропный яд и канцероген: токсиколого-гигиенические аспекты его биологического действия (сообщение 1) // *Сибирский медицинский журнал*. – 2005. – Т.53, №4. – С. 5–9.
- 10 Осипенко Б.Г., Полякова Л.О. нитрозодиметиламин – гепатотропный яд и канцероген: нитрозодиметиламин – гепатотропный яд и канцероген: острое и подострое отравление, биохимические аспекты (Сообщение 3) // *Сибирский медицинский журнал*. – 2005. – Т.55, №6. – С. 20-23.
- 11 Осипенко Б.Г., Полякова Л.О. нитрозодиметиламин – гепатотропный яд и канцероген: клинико-патоморфологическая картина отравления (сообщение 2) // *Сибирский медицинский журнал*. – 2005. – Т.54, №5. – С. 5–12
- 12 Панин Л.Е., Перова А.Ю. 2006. Медико-социальные и экологические проблемы использования ракет на жидком топливе (гептил) // *Бюллетень СО РАМН*. – 2006. – Т. 1, №119. – С. 124–131
- 13 Родин И.А., Москвин Д.Н., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Превращения несимметричного диметилгидразина в почвах // *Журнал физической химии*. – 2008. – Т.82, №6. – С. 1039–1044.
- 14 Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ: гигиенические критерии состояния окружающей среды 51. – М.: Медицина, 1989. – С. 108-124.
- 15 Шойхет Я.Н., Богданов С.В., Колядо В.Б., Трунова Л.Н. Заболеваемость населения территорий, прилегающих районам падения отделяющих ракет-носителей. – Барнаул: ГУНИИ РМЕРП, 2005. – 188 с.
- 16 Bakaikina N.V., B. Kenessov, N. Ul'yanovskii, and D.S. Kosyakov. «Quantification of transformation products of rocket fuel unsymmetrical dimethylhydrazine in soils using SPME and GC-MS» *Talanta*. 2018: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.047>
- 17 Bradley, P.M., S.A. Carr, R.B. Baird, and F.H. Chapelle. «Biodegradation of N-Nitrosodimethylamine in soil from a water reclamation facility» *Bioremediation Journal* 9 (2005): 115–20.
- 18 CAS - Chemical Abstracts Service, 2018. Available from: <http://www.cas.org/>.
- 19 Guide for the care and use of laboratory animals (Washington: The National Academic Press, 2011), 1-246.
- 20 Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document N-Nitrosodimethylamine (NDMA) (Ottawa: Health Canada, 2011): 1-39.
- 21 Kenessov B., M. Alimzhanova, Ye. Sailaukhanuly, N. Baimatova, M. Abilev, S. Batyrbekova, L. Carlsen, A. Tulegenov, and M. Nauryzbayev. «Transformation products of 1,1-dimethylhydrazine and their distribution in soils of fall places of rocket carriers in Central Kazakhstan» *Science of the Total Environment* 427-428 (2012): 78–85.
- 22 Lijinsky W. Chemistry and Biology of N-nitroso-compounds (Cambridge: Cambridge Monographs on Cancer Research, 2011), 1-482.
- 23 Liteplo R.G., Meek M.E., Windle W. N-Nitrosodimethylamine - Concise International Chemical Assessment Document 38 (Geneva: World Health Organization, 2002), 1-45.
- 24 Liviach, D., A. Creus, and R. Marcos. «Genotoxic Evaluation of the Non-Halogenated Disinfection by-Products Nitrosodimethylamine and Nitrosodiethylamine» *Journal of Hazardous Materials* 185 (2011): 613–18.
- 25 Madden, J., P. Yertman, and J. Davis. «Dimethylnitrosamine induce hepatic cirrhosis in the dog: a histological study» *Surgery* 264 (2003): 672–76.
- 26 Musa K.Sh., and P.Kh. Abdrazak «The impact of the cosmodrome «Baikonur» on the environment and human health» *International Journal of Biology and Chemistry* 8 (2015): 26-9.
- 27 National Toxicology Program Database. Available from: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~82bjlt:1>.
- 28 N-Nitrosodimethylamine in Drinking-Water. (Geneva: World Health Organization, 2008), 1-37.
- 29 Ooka, M., H. Takazawa, Sh. Takeda, and K. Hirota. «Cytotoxic and genotoxic profiles of benzo[a]pyrene and n-nitrosodimethylamine demonstrated using DNA repair deficient DT40 cells with metabolic activation» *Chemosphere* 144 (2016): 1901–7.

30 Souliotis V.L., J.R. Henneman, C.D. Reed, S.K. Chhabra, B.A. Diwan, L.M. Anderson, and S.A. Kyrtopoulos. «DNA adducts and liver DNA replication in rats during chronic exposure to N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and their relationships to the dose-dependence of NDMA hepatocarcinogenesis» *Mutation Research* 500 (2002): 75–87.

31 Wagner E.D., K.-M. Hsua, A. Lagunas, W.A. Mitch, M.J. Plewa. «Comparative genotoxicity of nitrosamine drinking water disinfection byproducts in *Salmonella* and mammalian cells» *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 741 (2012): 109–15.

32 Watanabe, S., and Yu. Kamiguchi. «Chromosome analysis of human spermatozoa following in vitro exposure to cyclophosphamide, benzo(a)pyrene and N-Nitrosodimethylamine in the presence of rat liver S9» *Mutation Research*. 491 (2001): 57–63.

**Мукашева Т.Д.¹, Бержанова Р.Ж.², Дюсенов О.³, Омирбекова А.⁴,
Иманбеков Ж.⁵, Алибекова А.⁶, Капан А.⁷**

¹доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: togzhan.mukasheva@kaznu.kz

²кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: ramza.berzhanova@kanzu.kz

³директор ТОО «KazEcoSolutions», Казахстан, г. Алматы, e-mail: olzhas@mail.ru,

⁴PhD кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: omirbekova_anel@mail.ru,

⁵магистрант 2 курса, Казахстан, г. Алматы, e-mail: knight_myasnyk@mail.ru,

⁶магистрант 2 курса, Казахстан, г. Алматы, e-mail: Alibe_2@mail.ru,

⁷магистрант 2 курса, Казахстан, г. Алматы, e-mail: ai_n@inbox.ru

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОРЕМЕДИАЦИИ
ПРЕПАРАТОМ «МИКО-ОЙЛ» ЗАМАЗУЧЕННОГО ГРУНТА
И НЕФТЕШЛАМА (В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ)**

На сегодняшний день загрязнение природной среды нефтью и нефтепродуктами, а также их утилизация является одной из сложных и многоплановых проблем экологии и приобретает все большую актуальность. В Казахстане достаточно территории с уровнем загрязнения поверхностных слоев почв от 30 до 40 %. Кроме того, загрязняются более глубокие слои, например, на приморской равнине нефть проникает до глубины 45-50 см. В этих условиях особую значимость приобретает возможность использования биологических методов рекультивации нефтезагрязненных территорий. Наиболее перспективным методом очистки является комплексное использование метода биоремедиации, включающие агро- и микробиологические приемы. В данной статье приводятся результаты исследования действия биопрепарата «Мико-Ойл» на снижение остаточного содержания нефтепродуктов в замазученном грунте и нефтешламе полигона АО «Озенмунайгаз» в полевых исследованиях. Исследование биоремедиации нефтезагрязненной почвы препаратом «Мико-Ойл» проведено в течение 30 суток. Было определено содержание тяжелых металлов и нефтепродуктов в почве, а также учитывали приживаемость клеток штаммов-деструкторов в загрязненной почве. Данные анализы проведены в ТОО РНПИЦ «Казэкология».

Было установлено, что под воздействием тестируемого препарата степень снижения концентрации нефтепродуктов достигла от 90 до 93,4%, при исходном содержании нефтяных углеводородов – 17347,3 мг/кг в почве, учитывая, что исследуемые почвы (замазученный грунт и нефтешлам) содержат в основном плохо разлагаемые тяжелые фракции нефти. Для рассмотрения механизма работы тестируемого препарата, была проведена экстракция нефтепродуктов из исследуемых образцов методом инфракрасной спектроскопии по истечении 30 дней. После проведения биологической рекультивации нефтезагрязненных земель отмечалось изменение фракционного состава нефтяных углеводородов, цвета и запаха почвы, что свидетельствует о способности данного препарата эффективно влиять на биодеструкцию нефтяных загрязнений в замазученном грунте и нефтешламе. В ходе работы были получены результаты, свидетельствующие о том, что для нейтрализации нефтезагрязнений разного характера необходимо внесение популяции специфических углеводородокисляющих микроорганизмов, входящих в состав препарата «Мико-Ойл», и проведение мероприятий, направленных на интенсификацию микробиологической деградации: поддержание оптимальной водно-воздушной и кислотной характеристик почв (рыхление, полив), а также внесение необходимого минерального питания и микроэлементов в нефтезагрязненные почвы.

Обобщая результаты исследований, можно отметить, что препарат «Мико-Ойл» показал интенсифицирующее действие на процессы биодеструкции нефтяных загрязнений в почвах полигона АО «Озенмунайгаз».

Ключевые слова: биоремедиация, биопрепарат, полигон, деструкция, грунт, нефтешлам.

Mukasheva T.¹, Berzhanova R.², Dyusenov O.³, Omirbekova A.⁴,
Imanbekov Zh.⁵, Alibekova A.⁶, Kapan A.⁷

¹Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Biotechnology,
Al-Farabi Kazakh National University (KazNU), Kazakhstan, Almaty, e-mail: togzhan.mukasheva@kaznu.kz;

²PhD, Associated Professor, Department of Biotechnology, Al-Farabi KazNU,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: ramza.berzhanova@kaznu.kz;

³Director of «KazEcoSolutions» LLP, Kazakhstan, Almaty, e-mail: olzhas@mail.ru,

⁴PhD, Assistant Professor, Department of Biotechnology, Al-Farabi KazNU,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: omirbekova_anel@mail.ru,

⁵master Student, Al-Farabi KazNU, Kazakhstan, Almaty, e-mail: imanbekov_z@mail.ru

⁶master student, Al-Farabi KazNU, Kazakhstan, Almaty, e-mail: Alibe_2@mail.ru,

⁷master student, Al-Farabi KazNU, Kazakhstan, Almaty, e-mail: ai_n@inbox.ru

Evaluation Of The Effectiveness of Bioremediation of Oil Contaminated Soil and Sludge Using “Myco-Oil” Product (Under Field Conditions)

Nowadays, the place of one of the complex and multidimensional ecological problems is given to pollution of the natural environment with petroleum and petroleum products as well as their utilization which is becoming increasingly important. There is enough territory in Kazakhstan with a level of contamination of surface layers of soils from 30 to 40 percent. In addition, deeper layers are polluted, for example, in the coastal plain, petroleum penetrates to a depth of 45-50 cm. Under these conditions, the possibility of using biological methods for recultivation of oil contaminated territories becomes particularly important. The most promising purification method is the complex use of the bioremediation way, including agro- and microbiological methods. This manuscript shows the results of a study of the effect of the “Myco-Oil” biological drug on the decrease of the residual content of petroleum products in the smeared soil and the oil slime of JSC “Ozenmunaigas” polygon in field studies. The study of bioremediation of oil-contaminated soil with “Myco-Oil” was carried out for 30 days. The content of heavy metals and petroleum products in the soil was determined, and the cell survival of destructive strains in contaminated soil was counted. These data was analyzed in the LLP “Kazecology”.

It was found that under the influence of the testing drug, the degree of decrease in the concentration of petroleum products estimated from 90 to 93.4%, with the initial content of petroleum hydrocarbons - 17347.3 mg / kg in soil, considering that the investigated soils (oiled soil and oil sludge) contain mainly badly decomposable heavy fractions.

To examine the mechanism of the testing drug, extraction of petroleum products from the samples was carried out by infrared spectroscopy after 30 days. After the biological recultivation of petroleum contaminated soil, a change in the fractional composition of petroleum hydrocarbons, the color and smell of the soil was noted, which indicates the ability of this drug to effectively influence the biodegradation of oil contamination in oiled soil and oil sludge. During the work, the results indicating that in order to neutralize oil pollution of different nature, it is necessary to introduce a population of specific hydrocarbon oxidizing microorganisms that are part of the “Myco-Oil” drug were obtained. Also, it is necessary to carry out activities aimed at intensifying of microbiological degradation: maintaining optimal water, air and acid characteristics of the soil (loosening, watering), as well as the introduction of the necessary mineral nutrition of the microelements in oil contaminated soil.

So, summarizing the results of the research, it should be noted that the “Myco-Oil” showed an intensifying effect on the processes of biodegradation of petroleum contamination in the soils of the JSC “Ozenmunaigas” polygon.

Key words: bioremediation, bioproduct, landfill, degradation, soil, sludge.

Мукашева Т.Д.¹, Бержанова Р.Ж.², Дюсенов О.³,
Омирбекова А.⁴, Иманбеков Ж.⁵, Алибекова А.⁶, Капан А.⁷

¹биология ғылымдарының докторы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің профессоры,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: togzhan.mukasheva@kaznu.kz

²биология ғылымдарының кандидаты, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің доценті,
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: ramza.berzhanova@kaznu.kz

³ЖШС «KazEcoSolutions» директоры, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: olzhas@mail.ru,

⁴PhD докторы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: omirbekova_anel@mail.ru

⁵2 курс магистранты, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: knight_myasnyk@mail.ru

⁶2 курс магистранты, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: Alibe_2@mail.ru,

⁷2 курс магистранты, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: ai_n@inbox.ru.

**«Мико-Ойл» препаратымен мазутпен ластанған топырақты және
мұнай шламын (далалық жағдайда) биоремедиациялау тиімділігін бағалау**

Бүгінгі күні қоршаған ортаның мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы, сонымен қатар оларды жою жолдары экология саласында күрделі және көпсалалы мәселенің бірі болып саналады. Қазақстанда 30–40 % дейін мұнаймен ластанған беткі топырақ қабаттары жеткілікті. Сонымен қатар, терең қабаттары да ластанады, мысалы, жазықтық теңіз жағалауында мұнаймен ластану 45–50 см тереңдікке дейін енеді. Осындай жағдайларда ең маңыздысы мұнаймен ластанған топырақтарды қалпына келтіруде биологиялық әдістердің мүмкіндігін қолдану. Тазартудың перспективті түрі болып табылатын кешенді түрде пайдаланатын агро- және микро-биологиялық тәсілдерін қамтитын биоремедиация әдісі. Осы мақалада «Өзенмұнайгаз» АҚ-ның далалық жағдайларда «Мико-Ойл» биопрепаратының әсерімен мазутталған топырақ пен мұнай шламдарындағы қалдық мұнай өнімдерінің мөлшерін төмендетуде зерттеу нәтижелері келтірілген. «Мико-Ойл» препаратымен мұнаймен ластанған топырақты биоремедиациялау 30 тәулік ішінде жүргізілді. Топырақтағы ауыр металдардың және мұнайдың мөлшері, сонымен қатар ластанған топырақтағы штамм-деструкторлардың клетка өміршеңдігі анықталынды. Талдау жұмыстары ЖШС РНПИЦ «Казэкология» жүргізілді.

Сынақтан өткізілетін әсер етуші препарат көмегімен мұнай өнімдерінің концентрация деңгейі 90 %-дан 93,4 % -ға дейін төмендеген, топырақтағы мұнай көмірсутектерінің бастапқы мөлшері – 17347,3 мг/кг құрады, зерттеуге алынған топырақ үлгілерінің (мазутталған грунт және мұнай шламдарында) құрамында, негізінен, нашар ыдырайтын ауыр фракциялар кездеседі.

Препараттың жұмыс істеу механизмін қарастыру үшін, 30 күн аралығында инфрақызыл спектроскопия әдістері арқылы зерттелетін үлгілерден мұнай өнімдерінің экстракциясы жүргізілген. Биологиялық рекультивация жүргізілгеннен кейін мұнаймен ластанған жерлердің мұнай көмірсутектерінің фракциялық құрамының және топырақтың түсі мен иісінің өзгерістері белгіленді, бұл препараттың мұнаймен ластанған мазутталған грунт және мұнайшламдарының биодеструкциясына эффективті қабілеттілігін көрсетті.

Жұмыс барысында алынған нәтижелер мынаған негіз бола алады, әр түрлі сипаттағы мұнаймен ластанған ортаны тазарту үшін «Мико-Ойл» препаратының құрамына кіретін арнайы көмірсутегін тотықтырушы микроорганизмдердің популяциясын енгізу қажет және микро-биологиялық деградациясының интенсификациясына бағытталған іс-шара жүргізу үшін оңтайлы су-ауа және қышқыл топырақ (қопсыту, суғару) сипаттамаларын сақтау керек, сонымен қатар мұнаймен ластанған топырақты минералды қоректендіру үшін қажетті микроэлементтерді енгізу керек.

Зерттеу нәтижелерін қорытындылай, келе «Мико-Ойл» препараты «Өзенмұнайгаз» АҚ полигонындағы мұнаймен ластанған топырақтарында биодеструкция үрдістеріне қарқынды әсер ететіндігі көрсетілді.

Түйін сөздер: биоремедиация, биопрепарат, полигон, ыдырату, грунт, мұнай шламдары.

Введение

В утвержденной Указом Президента РК Концепции «зеленой экономики» отмечается проблема исторических загрязнений, которые актуальны для Мангыстауской области (*Концепция по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия Республики Казахстан до 2030 года*. Астана, 2015 г.). Кроме того, загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является глобальной проблемой (Vogt and Richnow, 2014). По степени вредного влияния на экосистемы нефть и нефтепродукты занимают второе место после радиоактивного загрязнения (Wang, 2011). Несовершенство технологий добычи, транспортировки, переработки и хранения нефти приводит к ее аварийным разливам, которые достигают 60 – 70 млн. тонн в год, что составляет около 2% общей мировой добычи. Разливы нефти представляют

серьезную опасность как для экосистем, так и для здоровья человека (Хуе, 2015, Ekperusi O.A., Aigbodion F.I., 2015; Amr H.G., 2016). Так, самоочищение почв при уровне загрязнения нефтью 5 г/кг длится от 2 до 30 лет, а в северных регионах – до 50 лет. Последствия нефтяных загрязнений могут оказывать влияние на природные экосистемы в течение десятилетий и даже столетий (Оборин и др., 1988).

Наиболее благоприятно выглядят биотехнологические методы очистки загрязненных территорий, они имеют огромный потенциал и конкурентные преимущества, прежде всего, вследствие экологической безопасности и низкой стоимости (Wang, 2011). За счет воздействия природных компонентов – микроорганизмов, обитающих в почвах, процесс очистки проходит максимально мягко и не инвазивно в отношении объектов окружающей среды. Всё чаще для очистки территорий и акваторий от нефти

и нефтепродуктов используются биопрепараты, которые содержат жизнеспособные клетки штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов (Плешакова Е.В., 2005; Qingren W., 2011). Анализ литературных данных и патентный поиск существующих биопрепаратов показал, что в ряде случаев их недостатками являются узкий диапазон pH и температур, а также отсутствуют данные о способности микроорганизмов к деградации высоких концентраций нефти и нефтепродуктов (Radwan S., 2008; Wilkinson S., 2002; Fuentes S., 2014; J. Olsen, 1985).

Целью данной работы явилась оценка эффективности применения биопрепарата для очистки нефтезагрязненного грунта и нефтешлама полигона АО «Озенмунайгаз».

Материалы и методы исследований

Испытывался биопрепарат, состоящий из сообщества углеводородокисляющих микроорганизмов, выделенных из хронически нефтезагрязненных почв Атырауской и Мангыстауской областей.

Питательные среды:

В работе использовали следующие стандартные питательные среды: мясопетонный агар, Сабуро (Нетрусов А.И., 2005) и среда 8Е следующего состава: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 0,5 г/л, KH_2PO_4 – 0,7 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,8 г/л, NaCl – 0,5 г/л (Ильичева Т.Н., 2013).

Для определения эффективности технологии рекультивации с использованием биопрепарата было обустроено 3 опытных участка, 5x5 метров каждый. Из них выделено 2 экспериментальных участка и 1 контрольный.

Для оценки эффективности технологии и определения скорости разложения нефтяных углеводородов осуществлялся отбор проб грунта на 0, 10, 20, 30 сутки испытаний.

Нефтепродукты определялись флуориметрическим методом в испытательной лаборатории ТОО РНПИЦ «КАЗЭКОЛОГИЯ».

Количественному и качественному аналитическому контролю подвергался почвогрунт на содержание солей тяжелых металлов (цинк, медь, свинец, молибден, марганец, стронций, кадмий, железо).

Тяжелые металлы определялись спектрометрическим методом атомной абсорбции в испытательной лаборатории ТОО РНПИЦ «КАЗЭКОЛОГИЯ».

Биопрепарат вносился на 0, 10 и 20 сутки испытаний в количестве 5 г на 1 кг почвогрунта. На

протяжении всего хода испытаний все 3 участка подвергались комплексу мелиоративных мероприятий. В ходе эксперимента контролировали приживаемость клеток штаммов-деструкторов в загрязненной почве, высевая почвенную суспензию на поверхность питательной среды: мясо-пептонный агар и сусло-агар (Теппер Е.З., Шильникова В.К., 2004).

Обработка загрязненных участков проводилась рабочей суспензией препарата с концентрацией препарата 1г/л. Приготовление рабочего раствора производится методом активации препарата в растворе минеральных солей. Для приготовления раствора минеральных солей используется вода из естественных водоемов. В емкость рабочим объемом 100 л, оборудованную мешалкой или (лейка объемом 20 л), вносят 100 л теплой воды и добавляют 1 кг диаммоний фосфата по ТУ 113-08-556-84 или 1,5 кг аммофоса. После внесения всех солей в емкости производится интенсивное перемешивание раствора до полного растворения компонентов. Затем часть раствора смешивают с биопрепаратом в количестве, зависящем от интенсивности загрязнения территории. Предварительно препарат растирается в емкости с ранее приготовленным раствором солей до кашеобразного состояния, а затем выливается в емкость с тем же солевым раствором. После внесения всего требуемого количества препарата производится интенсивное перемешивание всего раствора в емкости, желательнее с аэрацией раствора в падающей струе или другим способом в течение не менее 3 и не более 2-3 часов. При этом лучше всего поддерживать температуру в пределах 15-40 °С для активации клеток микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата. После активации суспензия готова к употреблению.

Результаты и обсуждение

Некоторые исследователи наблюдали увеличение численности микробной популяции после внесения нефти почве (Delille, 2007; Natsuko Namamura, 2006; Chioma Blaise Chikere, 2011; Raed S. 2014). Кроме того, во многих работах отмечено при проведении полевого эксперимента на почве (в летний сезон, июнь-август) под влиянием углеводородов резко уменьшилась общая численность микроорганизмов. Через месяц численность различных групп микроорганизмов начала приближаться к исходному уровню. Исходная численность деструкторов углеводородов была $2,2 \times 10^5$ КОЕ/г почвы. Значительное увели-

чение их популяции наблюдали после 3 месяцев загрязнения (Чугунов и др., 2000).

Пробы нефтезагрязненного грунта и нефтешлама были взяты с полигона АО «Оземмунайгаз». Содержание нефтяных углеводородов в пробах были определены гравиметрическим методом. В результате лабораторного анализа проб было установлено первоначальное содержание нефтяных углеводородов в нефтешламе, что составило 230 г/кг. При проведении высева на среду 8Е появились единичные колонии микроорганизмов (рисунок 1). В пробах замазученного грунта содержание углеводородов составляло от 40 г/кг до 152 г/кг почвы на среде 8Е наблюдали обильное развитие резистентных к высоким концентрациям загрязнителя различные колонии

микроорганизмов. Также, загрязнение замазученного грунта в низкой дозе не вызвало достоверных изменений в численности сапротрофных бактерий на МПА. Высокая концентрация углеводородов в пробах замазученного грунта вызвала значительное снижение численности сапротрофных бактерий. Низкую численность сапротрофных бактерий наблюдали и в нефтешламе.

В модельных исследованиях в пробах с минимальной дозой загрязнения препарат не оказал заметного влияния на содержание углеводородов. При высокой степени загрязнения препарат оказался более эффективным, ускоряя процесс очищения на 30-50% по сравнению с пробами замазученного грунта и нефтешлама без бактериального препарата.



Рисунок 1 – Микроорганизмы, выделенные из нефтешлама и замазученного грунта на среде 8Е

Опытно-промышленные испытания эффективности биопрепарата провели на полигоне нефтесодержащих отходов, расположенном

на территории АО «Оземмунайгаз» (рисунок 2). Полигон предназначен для складирования, хранения и утилизации отходов.

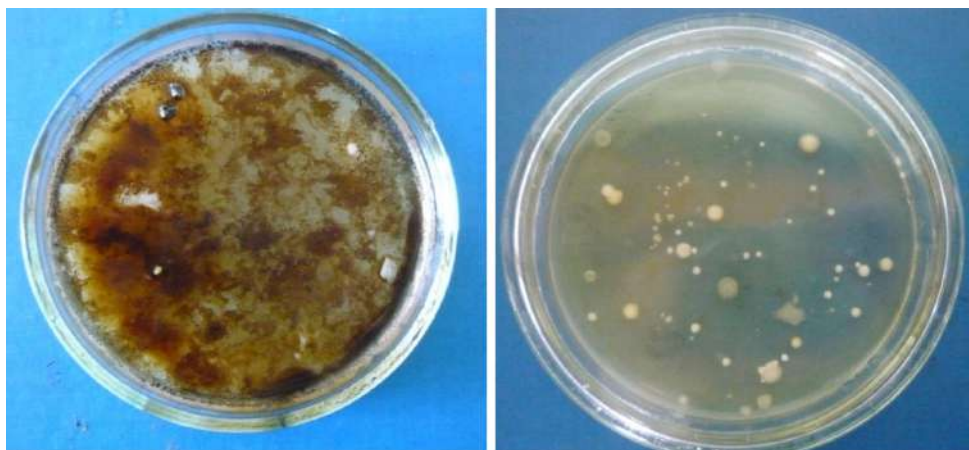


Рисунок 2 – Полигон и шламонакопитель

Растительность скудная, представлена прутьяково-полынными ассоциациями, встречается полынь серая, полынок, биюргун и житняк. Климат умеренно-засушливый, ветер северо-западный, скорость ветра 0,5 м/с, тем-

пература воздуха в период проведения ОПИ была около 29 °С – 38 °С. Равнинная поверхность кочковая с норами землероев. Гранулометрический состав почвы на полигоне представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Гранулометрический состав почвы на полигоне (в % на абсолютно сухую почву)

Глубина, см	Больше 3 мм	3-1	Размеры фракций, мм						
			1-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,005	0,005-0,001	меньше 0,001	сумма < 0,01
0-10	4,8	6,2	14,1	26,9	24,2	10,5	8,3	9,8	28,6
10-30	4,8	6,1	15,4	25,7	22,3	9,0	12,6	8,9	30,5

Для определения эффективности технологии рекультивации с использованием биопрепарата было обустроено 3 опытных участка, 5x5 метров каждый. Из них было отобрано 2 экспериментальных участка и 1 контрольный.

Исходное содержание нефтяных углеводородов в первом экспериментальном участке составило 17 347,3 мг/кг (таблица 2). Самые высокие темпы разложения нефтяного загрязнения приходятся на начало эксперимента. Из полученных результатов исследований было заметно, что уменьшение концентрации нефтяных углеводородов происходит постепенно (таблица 2). За первые 10 суток отмечается потребление 55,3% загрязняющих веществ. Это объясняется синергетическим эффектом от воздействия биопрепарата на загрязненную почву с высокой активностью углеводородокисляющей микрофлоры и созданием условий для его благоприятной работы путем непрерывного обеспечения комплекса мелиоративных мероприятий: рыхление почвы, внесение минеральных удобрений, поддержание оптимальной влажности.

Известно, что легкие фракции обладают наибольшей токсичностью по отношению к живым организмам (Van Hamme, 2003; Fuentes, 2014), но влияние их достаточно кратковременно вследствие быстрого испарения, биодеградации, рассеивания. Тяжелые фракции менее токсичны, но они значительно ухудшают свойства почв, затрудняя водо- и газообмен. Эти компоненты очень устойчивы и могут сохраняться в земле продолжительное время. Наиболее опасна группа ПАУ, являющихся продуктами неполного сгорания ископаемого топлива и органи-

ческих веществ (Пиковский и др., 2003). По данным фракционного анализа, микроорганизмы препарата «Мико-ойл» способны к деструкции разных фракций нефти, что, возможно, и обеспечило максимальную убыль нефти в данном эксперименте 59% (Мукашева Т.Д. 2013; Mikolasch Annett, T. Mukasheva, 2016; Бержанова Р.Ж., Мукашева Т.Д., 2017).

В период с 10 по 20 сутки активность микроорганизмов выходит на плато и активизируется вновь с внесением последней партии биопрепарата на 20 сутки. Невысокая степень усвоения углеводородов объясняется истощением минеральных компонентов, необходимых для поддержания жизнедеятельности и высокой метаболической активности микроорганизмов. После внесения очередной дозы минеральных удобрений вместе с препаратом окислительная активность штаммов возобновляется. По данным литературы установлено, что деструкция нефти в окружающей среде – многофакторный процесс, следует принимать во внимание, что на этот процесс при интродукции штаммов-деструкторов в загрязнённые объекты оказывают влияние многочисленные факторы (Vinas M., Grifoll M., 2002; Leahy J.G., Colwell R.R. 1990; Liu W, Luo Y, Teng Y, 2010; Sarkar D. et al., 2005).

Степень потребления нефтяных отходов на первом участке составила 90,2%. Остаточное количество не подвергшейся деструкции нефти составило 1 695,3 мг на 1 кг почвы. Экстраполяция 30-дневных результатов испытаний позволяет рассчитать с высокой долей вероятности срок полного потребления нефтяных углеводородов. Прогнозируется, что при текущих усло-

виях и соблюдения технологии рекультивации, полное очищение опытного участка до значений ПДК наблюдается на 30 сутки (Пиковский Ю.И., 2003).

Аналогичная картина наблюдается на втором экспериментальном участке, обработанном биопрепаратом. С тем лишь отличием, что среднее исходное содержание нефтяных углеводородов было определено на уровне 16 714,9 мг/кг. Характер потребления полностью соответствует интенсивности деструкции, протекавшей на первом участке. В количественном выражении потребление в первые 10 суток составило 57,1%. На 20 сутки количество неутраченной нефти составило 5 750,2 мг/кг почвы.

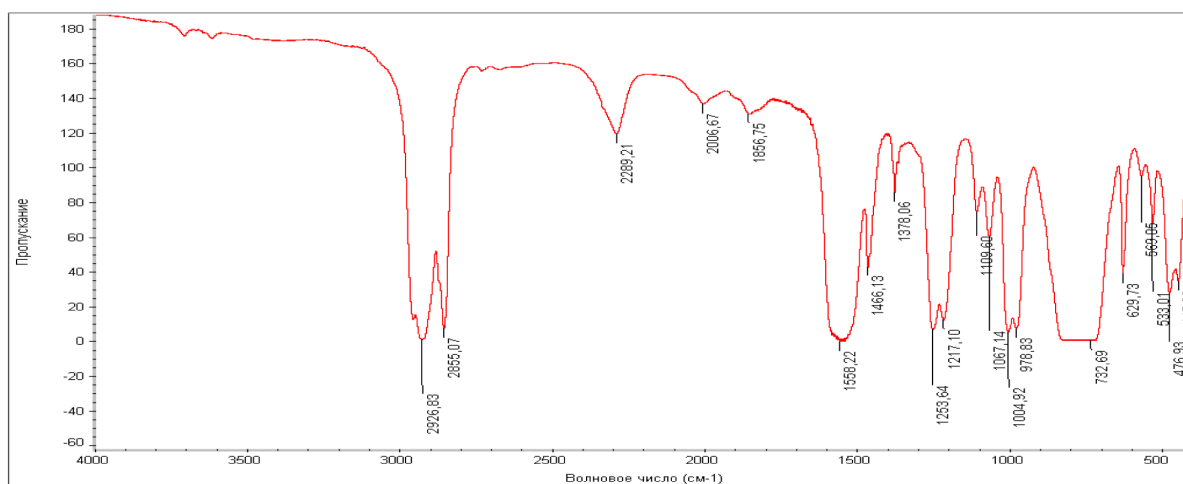
А на 30 сутки остаточное количество нефтяных углеводородов равнялось 1 105,5 мг/кг почвы и приблизилось к значению ПДК. При этом утилизации подверглось 93,4% содержащихся в почве нефтяных углеводородов. Из результатов полученных экспериментов можно сказать, что бентонит обеспечивает одновременно сорбцию нефтяных углеводородов и является носителем нефтеусваивающих культур микроорганизмов, обеспечивающих высокую деструкцию нефти (таблица 2). По средней скорости деструкции на двух экспериментальных участках наблюдали практически равную результативность: 521,7 мг/кг в день для первого участка и 520,3 мг/кг/день для второго.

Таблица 2 – Динамика изменения концентрации нефтяных углеводородов в почве экспериментальных участков

Образцы проб	Содержание нефтяных углеводородов в почве, мг/кг				Степень деструкции, % на 30-е сутки	Средняя скорость деструкции в день
	0 сутки	10-е сутки	20-е сутки	30-е сутки		
Участок 1	17347,3	7761,0	6244,1	1695,3	90,2	521,7
Участок 2	16714,9	7163,5	5750,2	1105,5	93,4	520,3
Участок 3 (контроль)	17935,9	14657,1	12157,2	11697,3	34,8	207,9

К 30-ым суткам после биоремедиационных мероприятий отмечалось изменение фракционного состава нефтяных углеводородов, цвета и запаха почвы, что свидетельствует о способности данных препаратов изменять качественные характеристики загрязненных почв.

Под действием биопрепарата изменяется количественный и качественный состав нефтяных углеводородов. В связи с этим методом инфракрасной спектроскопии были проведены исследования группового состава нефтяных углеводородов (рисунок 3).



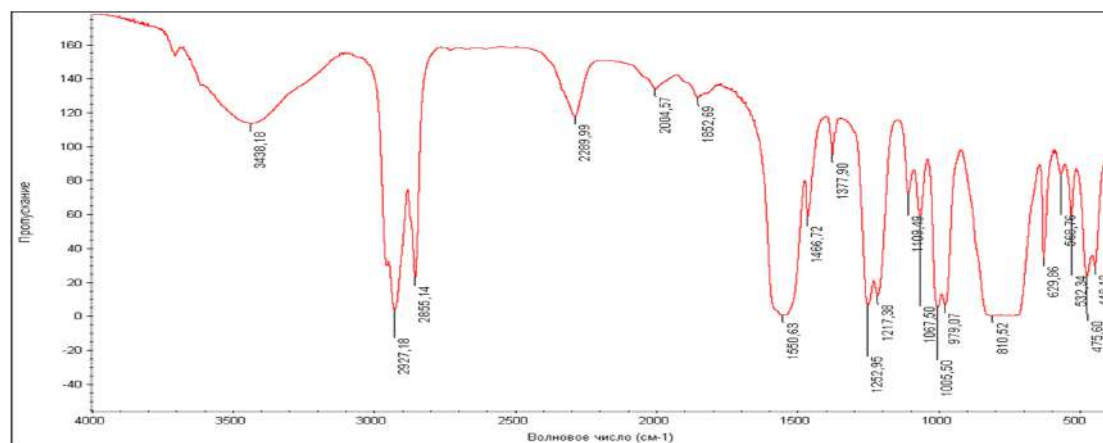


Рисунок 3 – Спектральный анализ фракционного состава нефти на 30 сутки

Спектральный анализ показал, что происходят значительные изменения фракционного состава нефти на 30 сутки культивирования. На контрольном участке также проводили комплекс агрономелиоративных мероприятий как вспашка и полив. В интервале с 20 по 30 сутки потребление углеводов практически остановилось и составило 3,8%. Суммарная степень деструкции на контрольном участке составила 34,8 % со средней скоростью 207,9 мг/кг в день (таблица 2).

Одновременно с определением содержания углеводов на экспериментальных участках была проведена работа по качественному и ко-

личественному анализу на содержание ряда тяжелых металлов на 0 и 30 сутки. Данному анализу подверглись пробы трех участков. Результаты определения тяжелых металлов в почве экспериментальных участков приведены в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что содержание тяжелых металлов в экспериментальных участках не меняется с течением времени. Превышение ПДК отмечается для цинка и свинца. Концентрация остальных элементов лежит либо в допустимых пределах ПДК, либо определяется фоновыми значениями для данной местности.

Таблица 3 – Содержание тяжелых металлов в почве экспериментальных участков

№	Показатель	Содержание, мг/кг					ПДК, ОДК, мг/кг
		Участок 1		Участок 2		Участок 3	
		0-е сутки	30-е сутки	0-е сутки	30-е сутки	0-е сутки	
1	Цинк	21,0	20,0	19,85	20,0	20,0	23,0
2	Медь	7,85	20,0	10,0	20,0	10,25	3,0
3	Свинец	9,95	10,0	10,09	10,0	10,0	32
4	Молибден	2,0	2,0	2,13	2,0	1,98	фон
5	Марганец	198,0	500,0	300,16	500,0	150,0	1500
6	Стронций	997,89	800,0	800,24	600,0	602,34	фон
7	Кадмий	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	1,0
8	Железо	15500,0	2,5	18812,3	15000,0	19756,2	фон

Таким образом, по результатам проведенных испытаний можно сделать вывод об успешности технологии биорекультивации нефтезагрязненных участков почвы на территории АО «Озенмунайгаз». Биопрепарат показал свою эффективность и способность к высокой деструктивной активности в отношении нефтяных углеводородов на данном месторождении и может с успехом применяться для рекультивации больших территорий и объемов нефтесодержащих отходов. Штаммы углеводородокисляющих микроорганизмов демонстрируют высокую специфичность к субстрату и способны усваивать до 90% массового содержания нефтепродуктов за 30-дневный срок. Большое значение имеет первичная концентрация нефтяных углеводородов в загрязненном грунте или нефтешламе.

В ходе проведенных экспериментов установлено, что для эффективного удаления нефтяного

загрязнения в процессе рекультивации может использоваться биопрепарат совместно с внесением минеральных удобрений и применением агро-мелиоративных мероприятий, обеспечивающих достаточный уровень аэрации и увлажнения почвы в течение нескольких вегетационных сезонов в зависимости от первоначального уровня загрязнения. По полученным данным исследований очистка нефтезагрязненных почв за один полевой сезон дала хороший эффект удаления нефтепродуктов в среднем до 91,8%.

Работа выполнена в рамках реализации проекта «Стимулирование продуктивных инноваций» по Программе грантов для ГСНС и ГМНС, подпроекта: «APP-SSG-16-0555 Инновационный биопрепарат “Мико-Ойл” для очистки почвы и воды от нефтяных загрязнений и агро-микробиологическая технология его применения».

Литература

- 1 Концепция по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия Республики Казахстан до 2030 года. Астана, 2015 г.
- 2 Мукашева Т.Д. Нефтеокисляющие микроорганизмы для биоремедиации нефтезагрязненных почв // LAP Lambert Academic Publishing 2013г. Германия. ISBN Lap Lambert academic – 200 с.
- 3 Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
- 4 Оборин А.А., Калачникова И.Г., Масливец Т.А., Базенкова Е.И., Плешева О.В., Оглоблина А.И. Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. – С. 140–159.
- 5 Патент РФ 2509150. Ильичева Т.Н., Мокеева А.В., Шестопапов А.М., Емельянова Е.К., Алексеев А.Ю., Забелин В.А. Ассоциация штаммов бактерий – нефтеструктуров и способ ремедиации нефтезагрязненных объектов 27.10.2013 Бюл. № 30.
- 6 Пиковский Ю.И., Геннадиев А.Н., Чернянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики и нормирования почв нефтью и нефтепродуктами // Почвоведение. 2003. № 9. С. 1132–1140.
- 7 Плешакова Е.В., Дубровская Е.В., Турковская О.В. Приемы стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры // Биотехнология. – 2005. – №1. – С.42–50.
- 8 Теппер Е.З., Шильникова В.К. Практикум по микробиологии Учебное пособие для ВУЗов. – М.: Дрофа, 2004. – 216 с.
- 9 Чугунов В.А., Ермоленко З.М., Жиглецова С.К., Мартовецкая И.И., Миронова Р.И., Жиркова Н.А., Холоденко В.П., Ураков Н.Н. Создание и применение жидкого препарата на основе ассоциации нефтеокисляющих бактерий // Прикл. биохим. микробиол. 2000. Т. 36. № 6. С. 666–671.
- 10 Шигаева М.Х., Бержанова Р.Ж., Мукашева Т.Д., Сыдыкбекова Р.К., Дюсенов О.К. Микробный препарат для очистки нефтезагрязненных грунтов, нефтешламов и водных поверхностей № 8 – 28.04.2017.
- 11 Amr H.G., Ahmed S. and et all. Evaluation of Phytoremediation and Bioremediation for Sandy Soil Contaminated with Petroleum Hydrocarbons // International Journal of Environmental Science and Development, Vol. 7, № 7, 2016.
- 12 Chioma Blaise Chikere, Gideon Chijioko Okpokwasili, and Blaise Ositadinma Chikere // Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil Biotech. 2011;1(3):117–138. doi:10.1007/s13205–011–0014–8.
- 13 Delille D., Pelletier E., Coulon F. The influence of temperature on bacterial assemblages during bioremediation of a diesel fuel contaminated Subantarctic soil // Cold Regions Sci. Technol. 2007. V. 48. P. 74–83.
- 14 Ekperusi O.A., Aigbodion F.I. Bioremediation of petroleum hydrocarbons from crude oil-contaminated soil with the earthworm: *Hyperiodrilusafricanus* // Biotech. – 2015. – Vol. 5. – P. 957 – 965.
- 15 Fuentes S., Méndez V., Aguila P., Seeger M. Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications // Appl Microbiol Biotechnol. 2014. V. 98. No 11. P. 4781–4794.
- 16 Leahy J.G., Colwell R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment // Microbiol. Rev. 1990. Vol. 54. P. 305 – 315.
- 17 Liu W, Luo Y, Teng Y, et al. (2010) Bioremediation of oily sludge-contaminated soil by stimulating indigenous microbes. Environ Hlth Gecochem 32: 23-29.
- 18 Mikolasch, Annett; Reinhard, Anne; Alimbetova, Anna; Anel Omirbekova, Togzhan Mukasheva et al // Journal of Basic Microbiology Volume: 56 Issue: 11 Published: NOV 2016, Pages: 1252-1273.

- 19 Natsuko Hamamura, Sarah H. Olson and William P. Inskeep Microbial Population Dynamics Associated with Crude-Oil Biodegradation in Diverse Soils // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006;72(9):6316-6324.
- 20 Olsen J., "Pseudomonas Degradation of Hydrocarbons," United States Patent # 4508824, United States Patent Office, 1985.
- 21 Qingren Wang, Shouan Zhang, Yuncong Li, Waldemar Klassen Potential Approaches to Improving Biodegradation of Hydrocarbons for Bioremediation of Crude Oil Pollution // *Journal of Environmental Protection*, 2011, 2, 47-55.
- 22 Radwan S. Microbiology of oil-contaminated desert soils and coastal areas in the Arabian Gulf Region // *Soil biology. Microbiology of extreme soils* / Eds. P. Dion, C. S. Nautiyal. Berlin, 2008. P. 275–298.
- 23 Raed S. Al-Wasify and Shima R. Hamed Bacterial Biodegradation of Crude Oil Using Local Isolates // *International Journal of Bacteriology* Volume 2014 (2014), Article ID 863272, 8 pages.
- 24 Sarkar D., Ferguson M., Datta R, et al. (2005) Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environ Pollut* 136: 187-195.
- 25 Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P. Recent advances in petroleum microbiology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67. No. 4. P. 503–549.
- 26 Vinas M., Grifoll M., Sabate J., Solanas A.M. Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities // *J. Industrial Microbiol. and Biotechnol.* 2002. Vol. 28. P. 252–260.
- 27 Vogt C., Richnow H.H. Bioremediation via in situ microbial degradation of organic pollutants // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2014. V. 142. P. 123-146.
- 28 Wang Q., Zhang S., Li Y., Klassen W. Potential Approaches to Improving Biodegradation of Hydrocarbons for Bioremediation of Crude Oil Pollution // *Journal of Environmental Protection*. 2011. N 2. P. 47-55.
- 29 Wilkinson S., Nicklin S., Faul J.L. Biodegradation of fuel oils and lubricants: soil and water bioremediation options // *Bioremediation: Bioremediation technology for health and environmental protection* / Eds. V. P. Singh, R. D. Stapleton. Elsevier Science, 2002. P. 69 – 100.
- 30 Xue J., Yu Y., Bai Yu., Wang L., Wu Y. Marine oil-degrading microorganisms and biodegradation process of petroleum hydrocarbon in marine environments: a review // *Curr. Microbiol.* 2015. Vol. 71. N 2. – P. 220-228.

References

- 1 Amr H.G., Ahmed S. and et all. Evaluation of Phytoremediation and Bioremediation for Sandy Soil Contaminated with Petroleum Hydrocarbons // *International Journal of Environmental Science and Development*, Vol. 7, № 7, 2016.
- 2 Chioma Blaise Chikere, Gideon Chijioke Okpokwasili, and Blaise Ositadinma Chikere // *Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil* *Biotech.* 2011;1(3):117-138. doi:10.1007/s13205-011-0014-8.
- 3 Chugunov V.A., Ermolenko Z.M., Zhigletsova S.K., Martovetskaya I.I., Mironova R.I., Zhirkova N.A., Kholodenko V.P., Urakov N.N. Sozdaniye i primeneniye zhidkogo preparata na osnove assotsiatsii nefteokislyayushchih bakterii [Creation and application of a liquid preparation on the basis of an association of oil-oxidizing bacteria] *Prikl. biochem. microbiol.* I. 36. № 6 (2000): 666-671 (In Russian).
- 4 Delille D., Pelletier E., Coulon F. The influence of temperature on bacterial assemblages during bioremediation of a diesel fuel contaminated Subantarctic soil // *Cold Regions Sci. Technol.* 2007. V. 48. P. 74-83.
- 5 Ekperusi O.A., Aigbodion F.I. Bioremediation of petroleum hydrocarbons from crude oil-contaminated soil with the earthworm: *Hyperiodrilus africanus* // *Biotech.* – 2015. – Vol. 5. – P. 957 – 965.
- 6 Fuentes S., Méndez V., Aguila P., Seeger M. Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014. V. 98. No 11. P. 4781-4794.
- 7 Kontseptsiya po sohraneniyu i ustoychivomu ispolzovaniyu biologicheskogo raznoobraziya Respubliki Kazakhstan do 2030 goda [The concept of conservation and sustainable use of biological diversity in the Republic of Kazakhstan due to 2030], Astana, 2015 (In Russian).
- 8 Leahy J.G., Colwell R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment // *Microbiol. Rev.* 1990. Vol. 54. P. 305 – 315.
- 9 Liu W, Luo Y, Teng Y, et al. (2010) Bioremediation of oily sludge-contaminated soil by stimulating indigenous microbes. *Environ Hlth Geochem* 32: 23-29.
- 10 Mikolasch, Annett; Reinhard, Anne; Alimbetova, Anna; AnelOmirbekova, TogzhanMukasheva et.al // *Journal of Basic Microbiology* Volume: 56 Issue: 11Published: NOV 2016, Pages: 1252-1273.
- 11 Mukasheva T.D. Nefteokislyayushchie mikroorganizmy dlya bioremediatsii neftezagryaznennykh pochv [Oil-oxidizing microorganisms for bioremediation of oil contaminated soils] LAP Lambert Academic Publishing, 2013, Germany: 200 (In Russian).
- 12 Natsuko Hamamura, Sarah H. Olson and William P. Inskeep Microbial Population Dynamics Associated with Crude-Oil Biodegradation in Diverse Soils // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006;72 (9):6316-6324.
- 13 Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on microbiology] M.: Academy, 2005: 608 (In Russian).
- 14 Oborin A.A., Kalachnikova I.G., Maslivets T.A., Bazenkova E.I., Pleshcheva O.V., Ogloblina A.I. Vosstanovleniye neftezagryaznennykh pochvennykh ekosistem [Restoration of oil contaminated soil ecosystems] M.: Nauka, 1988: 140-159 (In Russian).
- 15 Olsen J. "Pseudomonas Degradation of Hydrocarbons," United States Patent # 4508824, United States Patent Office, 1985.
- 16 Patent № 2509150, Russian Federation. Ilyicheva T.N., Mokeeva A.V., Shestopalov A.M., Emelyanova E.K., Alekseev A.Yu., Zabelin V.A. Assotsiatsiya shtammov bakteriy – neftedekstruktorov i sposob remediatsii neftezagryaznennykh ob'ektov [Association of oil-destructive bacterial strains and a way of remediation of oil-contaminated objects], 10/27/2013 Byul. № 30.

17 Pikovsky Yu.I., Gennadiev A.N., Chernyansky S.S., Sakharov G.N. Problema diagnostiki i normirovaniya pochv nef't'yu i nefteproduktami [Problem of diagnostics and rationing of soils with oil and oil products], *Soil Science*. № 9 (2003): 1132-1140 (In Russian).

18 Pleshakova E.V., Dubrovskaya E.V., Turkovskaya O.V. Priyemy stimulyatsii aborigennoi nefteokislyayushchey mikroflory [Ways of stimulation of aboriginal oil-oxidizing microflora] *Biotechnology* №1 (2005): pp. 42-50 (In Russian).

19 Qingren Wang, Shouan Zhang, Yuncong Li, Waldemar Klassen Potential Approaches to Improving Biodegradation of Hydrocarbons for Bioremediation of Crude Oil Pollution // *Journal of Environmental Protection*, 2011, 2, 47-55.

20 Radwan S. Microbiology of oil-contaminated desert soils and coastal areas in the Arabian Gulf Region // *Soil biology. Microbiology of extreme soils* / Eds. P. Dion, C. S. Nautiyal. Berlin, 2008. P. 275–298.

21 Raed S. Al-Wasify and Shimaa R. Hamed Bacterial Biodegradation of Crude Oil Using Local Isolates // *International Journal of Bacteriology* Volume 2014 (2014), Article ID 863272, 8 pages.

22 Sarkar D., Ferguson M., Datta R, et al. (2005) Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environ Pollut* 136: 187-195.

23 Shigaeva M.Kh., Berzhanova R.J., Mukasheva T.D., Sydybekova R.K., Dyusenov O.K. Mikrobnii preparat dlya ochistki neftezagryaznennykh gruntov, nefteshlammov i vodnykh poverhnostei [Microbial product for cleaning of oil-contaminated soils, oil sludge and water surfaces] № 8 (2017) (In Russian).

24 Tepper E.Z., Shilnikova V.K. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on microbiologia] Textbook for Universities. - Moscow: Drofa, 2004: 216 (In Russian).

25 Van Hamme J.D., Singh A., Ward O.P. Recent advances in petroleum microbiology // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67. No. 4. P. 503–549.

26 Vinas M., Grifoll M., Sabate J., Solanas A.M. Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities // *J. Industrial Microbiol. and Biotechnol.* 2002. Vol. 28. P. 252–260.

27 Vogt C., Richnow H.H. Bioremediation via in situ microbial degradation of organic pollutants // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2014. V. 142. P. 123-146.

28 Wang Q., Zhang S., Li Y., Klassen W. Potential Approaches to Improving Biodegradation of Hydrocarbons for Bioremediation of Crude Oil Pollution // *Journal of Environmental Protection*. 2011. N 2. P. 47-55.

29 Wilkinson S., Nicklin S., Faul J.L. Biodegradation of fuel oils and lubricants: soil and water bioremediation options // *Bioremediation: Bioremediation technology for health and environmental protection* / Eds. V. P. Singh, R. D. Stapleton. Elsevier Science, 2002. P. 69 – 100.

30 Xue J., Yu Y., Bai Yu., Wang L., Wu Y. Marine oil-degrading microorganisms and biodegradation process of petroleum hydrocarbon in marine environments: a review // *Curr. Microbiol.* 2015. Vol. 71. N 2. - P. 220-228.

3-бөлім
**БИОЛОГИЯЛЫҚ
АЛУАНТҮРЛІКТІ САҚТАУДЫҢ
ӨЗЕКТІ МӘСЕЛЕЛЕРІ**

Раздел 3
**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
СОХРАНЕНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ**

Section 3
**ACTUAL PROBLEMS
OF BIODIVERSITY CONSERVATION**

Бразникова Е.В.¹, Мукашева Т.Д.², Игнатова Л.В.³

¹PhD студент, e-mail: PoLB_4@mail.ru

²д.б.н., проф., кафедра биотехнологии, e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz

³к.б.н., доцент, и.о. профессора кафедры биотехнологии, e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКРОМИЦЕТНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ ПОД ПОСЕВАМИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

В статье представлены данные о таксономическом составе микромицетов в почвах агроценозов 7 кормовых и зерновых культур (сои, ячменя, люцерны, рапса, сафлора, донника и эспарцета), а также дана характеристика структуры микромицетных сообществ.

Идентификацию микромицетов выполняли классическими микробиологическими методами по совокупности морфологических признаков и культурально-физиологических свойств. Структуру микромицетных сообществ оценивали по относительному обилию и пространственной частоте встречаемости представителей различных родов.

Основные результаты. Мицелиальные грибы, изолированные из исследованных почв, отнесены к 8 родам: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Metarhizium* и *Beauveria*. Дрожжевые организмы представлены родами *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia*, *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces* и *Cryptococcus*. Почвы под посевами агрокультур по сравнению с целинными характеризовались меньшим родовым разнообразием. Основными компонентами сообществ грибов являлись различные виды родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*. На долю каждого из данных родов приходилось от 13,2 до 28,8%, частота встречаемости составила от 67 до 100%. Среди дрожжей как по относительному обилию, так и по частоте встречаемости преобладали представители родов *Aureobasidium*, *Rhodotorula* и *Metschnikowia*.

Ключевые слова: почвенные микромицеты, таксоны, структура сообществ, агроценоз.

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

¹PhD student, e-mail: PoLB_4@mail.ru

²Doctor of Biological Sciences, Prof., Department of Biotechnology, e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz

³Candidate of Biological Sciences, associate professor, Department of Biotechnology, e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

The taxonomical structure of micromycetes communities of soils planted with agricultural crops

The paper presents data on the taxonomic composition of micromycetes in soils of agrocenoses of 7 fodder and grain crops (soybean, barley, lucerne, rape, safflower, sweet clover and sainfoin). The structure of micromycete communities is given.

The identification of micromycetes was performed by classical microbiological methods based on morphological features and cultural and physiological properties. The structure of micromycete communities was estimated by the relative frequency and spatial frequency of occurrence of representatives of different genera.

Main results. The filamentous fungi isolated from the investigated soils belong to the eight genera: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria*. Yeast organisms are represented by the genera *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia*, *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, and *Cryptococcus*. Soils under agricultural crops were characterized by a smaller generic variety compared to virgin. The main components of the fungal communities were various species of genera *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*. The share of each of these genera accounted for from

13.2 to 28.8%, the frequency of occurrence was from 67 to 100%. Representatives of the genera *Aureobasidium*, *Rhodotorula* and *Metschnikowia* prevailed among the yeasts in both relative frequency and frequency of occurrence.

Key words: soil micromycetes, taxa, structure of communities, agrocenosis.

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

¹PhD студенті, e-mail: PoLB_4@mail.ru

²б.ғ.д., биотехнология кафедрасының профессоры, e-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz

³б.ғ.к., доцент, биотехнология кафедрасының профессоры м.а., e-mail: Lyudmila.Ignatova@kaznu.kz
 Өл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Ауыл шаруашылығы дақылдары егілген топырақтың микромицеттік қауымдастығы таксономикалық құрылымы

Мақалада 7 астық және жем-шөп дақылдар (соя, арпа, люцерна, рапс, сафлора, тәтті жоньшқа және саинфин) агрохенозының топырақтарында микромицеттердің таксономикалық құрамы туралы мәліметтер келтірілген. Микромицетикалық қауымдастықтардың құрылымы сипаттамасы берілген.

Микромицеттері сәйкестендіру морфологиялық ерекшеліктерге және культуралдық-физиологиялық қасиеттерге негізделген классикалық микробиологиялық әдістермен орындалды. Микромицеттік қауымдастықтардың құрылымы туыстардың өкілдерінің салыстырмалы молшылығы мен кеңістіктік жиілігі арқылы бағаланды.

Негізгі нәтижелер. Зерттелген топырақтан оқшауланған жіп тәрізді саңырауқұлақтар 8 туыстарына жатқызылды: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria*. Ашытқы шектеуін *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia*, *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Cryptosoccus* туыстарына жатқызылды. Ауыл шаруашылық дақылдарының егістіктеріндегі тыңайтқыштар топыраққа қарағанда кішігірім генерацияланады. Саңырауқұлақтардың негізгі құрамдас бөліктері *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* туыстар болды. Осы туыстардың әрқайсысының үлесі 13,2%-дан 28,8%-ға дейін, кеңістіктік жиілігі 67%-дан 100%-ға дейін жетті. Ашытқылар арасында салыстырмалы молшылығы мен кеңістіктік жиілігінде *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia* туыстар басым болды.

Түйін сөздер: топырақ микромицеттер, таксондар, қауымдастық құрылымы, агроценоз.

Введение

Одной из главных структурных и функциональных составляющих наземных и водных экосистем являются сообщества микромицетов. По количеству описанных видов грибы занимают второе место в ряду других групп организмов, уступая лишь беспозвоночным животным. Микромицеты представляют собой неотъемлемый компонент для функционирования и саморегулирования естественных и искусственных экосистем. Образуя особый экогоризонт, микромицеты контролируют широкий спектр экосистемных функций – первичную и вторичную продуктивность, регенерацию биофильных элементов путем разложения растительных и животных остатков и перевода их из геологического круговорота в биологический. В качестве редуцентов грибы выполняют роль посредников между живым и косным веществом биосферы (Терехова, 2007:10; Марфенина, 2005: 7; Bridge, 2001: 147-149; Carlile, 2001; Taylor, 2015: 94-95; Willis, 2013: 2).

Несмотря на повсеместность распространения, полифункциональность и значимость

почвенных микромицетов, их сообщества – относительно малоизученные компоненты экосистем, всестороннее исследование которых имеет важное научное и практическое значение.

Сведения об экологии почвенных микромицетов, их таксономическом разнообразии и относительном обилии в почвах Казахстана, и в особенности в почвах агроценозов, весьма ограничены. Мало изученными остаются и вопросы, касающиеся качественного состава и структуры различных микробных сообществ в зависимости от физических и химических свойств почвы, при действии различных экологических факторов, таких как тип растительности, степень окультуренности почвы и т.д.

В связи с этим исследования таксономического состава и особенностей распространения грибов, характеристика структуры микромицетных сообществ являются актуальными и необходимыми.

Целью данной работы явилось изучение таксономической структуры микромицетных сообществ в почвах агроценозов. Основные направления исследования: определение родовой принадлежности мицелиальных грибов и

дрожжей, изолированных из образцов некультивируемой почвы и почв агроценозов зерновых и кормовых культур, характеристика структуры микромицетных сообществ по относительному обилию и пространственной частоте встречаемости представителей различных родов

Материалы и методы исследования

Материалом исследования служили почвенные образцы целинной темно-каштановой почвы, а также темно-каштановая почва агроценозов 7 зерновых и кормовых культур: сои, ячменя, люцерны, рапса, сафлора, донника и эспарцета. Место отбора проб: Алматинская область, частная агропромышленная фирма «Турген».

Выделение микромицетов из почвенных образцов проводили методом посева разведений почвенной суспензии на селективные питательные среды. Посевы инкубировали при температуре 25 °С в течение 2-3 недель. Для выделения мицелиальных грибов и дрожжей использовали питательные среды Сабуро, Чапека и Эшби (Alef, 1995; Кураков, 2001: 12-26; Звягинцев, 1991: 169-174).

Определение таксономического состава сообществ микромицетов. Выросшие колонии мицелиальных грибов и дрожжей разделяли на макроморфологические типы, затем подсчитывали число колоний каждого типа на чашке. Колонии группировали по культуральным признакам, выявляли критерии, достаточные для определения родовой принадлежности. Идентификацию микромицетов осуществляли классическими микробиологическими методами после выделения микроорганизмов в чистую культуру по совокупности морфологических признаков и культурально-физиологических свойств, используя современные определители для соответствующих групп и родов микромицетов (Kurtzman, 2011; Ellis, 1988; Barnett, 1998; Watanabe, 2010).

Структуру сообществ микромицетов оценивали по относительному обилию и пространственной частоте встречаемости представителей различных родов (Мирчинк, 1988: 119; Bills, 2004; Zak, 2004: 60-62).

Относительное обилие рода определяли как отношение колоний данного рода к общему количеству колоний в данном варианте, выраженное в процентах (1):

$$OO = A/B \times 100, \quad (1)$$

где OO – относительное обилие таксона, %

A – количество изолятов микромицетов данного рода, шт

B – общее количество изолятов микромицетов в данном варианте, шт.

Пространственная частота встречаемости определялась как доля образцов, в которых обнаружен данный род, от общего числа проанализированных образцов (2).

$$ЧВ = A/B \times 100, \quad (2)$$

где ЧВ – пространственная частота встречаемости, %

A – количество образцов, в которых обнаружен данный род, шт

B – общее количество образцов, шт.

По частоте встречаемости в образцах роды микромицетов были ранжированы по трем группам: 1 – доминирующие (частота встречаемости составляет более 60%); 2 – частые (от 30% до 60%); 3 – редкие (менее 30%).

Обзор литературы

Таксономический состав микромицетов того или иного биоценоза зависит от типа питающего субстрата, температуры, влажности, света и других факторов. Вместе с тем, помимо этих основных факторов, обуславливающих как функциональное, так и пространственное распространение микромицетов, родовой и видовой состав микромицетных сообществ зависит от степени флористической насыщенности биоценозов, их пространственного положения, амплитуды вертикального и горизонтального распространения, характера свойственных отдельным видам жизненных форм, биохимической структуры доминирующих видов. Для каждого типа почвы и растительной ассоциации характерен специфический состав мицелиальных грибов, дрожжей и дрожжеподобных грибов (Anderson, 2004: 1-2; Мирчинк, 1988: 106-121; Марфенина, 2005: 27; Kivlin, 2011; Yang, 2010: 436; Erland, 2002: 165-167).

Результаты исследований многих авторов в области микробной экологии и географии свидетельствуют о том, что микроорганизмы, в том числе и микромицеты, имеют определенные ареалы распространения, подобные ареалам крупных организмов (Марфенина, 2005; Foissner, 2006: 112-113; Martiny, 2006; Fontaneto, 2012: 87). Многочисленные данные об особеннос-

тях распространения дрожжей (Bazzini, 2017; Barriga 2011: 56-58; Bab'eva, 1995; Botha, 2011; Yurkov, 2012: 24-25), а также представителей таких крупных родов мицелиальных грибов, как *Penicillium* (Visagie, 2014: 343-344; Christensen et al., 2000), *Aspergillus* (Klich, 2002), *Trichoderma* (Jiang, 2016; Samuels, 1996; Druzhinina 2005: 100), *Fusarium* (Summerell et al., 2010: 8-11), *Cladosporium* (Bensch, 2010: 1-2), подтверждают тот факт, что многие виды приурочены к определенным типам почв, растительности и широтным поясам. Вместе с тем, имеются и космополитные виды, встречающиеся повсеместно.

Результаты исследования и их обсуждение

В проведенных исследованиях был выявлен ряд сходных черт и общих закономерностей в распределении микобиоты в почвенных образцах исследуемых агроценозов. Вместе с тем приуроченность почв к определенному типу растительности, особенности морфологического строения почв, различия в степени окультуренности, обусловили определенные различия в структуре комплексов микромицетов (рисунок 1).

Мицелиальные грибы, изолированные из исследованных почв, по ряду морфологических и культуральных признаков были отнесены к 2 отделам: *Zygomycota* (представлен единичным родом – *Mucor*) и *Ascomycota* (выявлено 7 родов – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Metarhizium* и *Beauveria*). Структура сообществ дрожжей и дрожжеподобных грибов была представлена следующими родами *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia*, *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces* и *Cryptococcus*. Среди них только роды *Rhodotorula* и *Cryptococcus* принадлежат к базидиомицетовому аффинитету, а все остальные являются аскомицетовыми дрожжами.

Комплексы микромицетов в почвенных образцах оценивали по относительному обилию представителей различных родов и пространственной частоте встречаемости.

На рисунке 1 представлены данные об относительном обилии родов в структуре микромицетных сообществ под посевами различных агрокультур и в целинной почве.

В составе комплекса микромицетов некультивируемой почвы были выявлены представители 7 родов мицелиальных грибов и 6 родов дрожжевых организмов (рисунок 1). Состав микромицетов в целинной почве характеризовался высоким содержанием таких родов мицелиаль-

ных грибов, как: *Penicillium* (21,1%), *Aspergillus* (19,2%) и *Fusarium* (14,3%). Среди дрожжей наибольшую долю занимали представители родов *Aureobasidium* (10,1%) и *Rhodotorula* (8,6%). Это эвритопные роды микромицетов, имеющие широкий ареал распространения.

Анализ проведенных исследований свидетельствовал о том, что почвы под посевами агрокультур по сравнению с целинными почвами характеризовались меньшим родовым разнообразием. Следует отметить, что родовое разнообразие микромицетов заметно убывало по мере приближения к поверхности корня, вследствие чего родовой состав в ризосфере был значительно более однообразный, чем в почве вне ризосферы. Основными компонентами сообществ микроскопических грибов в почвах агроценозов являлись различные виды родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*. На долю каждого из данных родов в структуре микромицетных сообществ приходилось от 13,2 до 28,8%. В небольшом количестве встречались мицелиальные грибы родов *Mucor*, *Trichoderma*, *Metarhizium* и *Beauveria* (рисунок 1).

Окультурирование почвы сопровождалось снижением разнообразия микромицетных сообществ. Наибольшую долю в структуре комплексов микромицетов почв агроценозов занимали различные виды рода *Penicillium* (21,1-28,8%). Наиболее обильно данные грибы были представлены в почвах под посевами рапса (рисунок 1). Известно, что мицелиальные грибы рода *Penicillium* благодаря богатому ферментному аппарату способны существовать в самых разнообразных условиях (Visagie, 2014: 343-344; Christensen et al., 2000).

Существенным компонентом микромицетных сообществ являлись грибы рода *Aspergillus*, содержание которых составляло от 15,4 до 20,1% (рисунок 1). Возможно, такое высокое содержание и встречаемость во всех исследуемых почвах связано с природно-климатическими условиями. Представители рода *Aspergillus* многими исследователями описаны как ксерофильные и термофильные грибы (Klich, 2002).

Отмечено обилие грибов рода *Fusarium* (13,2–23,8%) во всех анализируемых почвенных образцах. В почве грибы рода *Fusarium* имеют широкое распространение, способны существовать в активной форме и быстро размножаться. Тесная связь грибов рода *Fusarium* с травянистой растительностью отмечена рядом авторов. Данные грибы в значительном количестве выявляются в почвах, покрытых травянистой расти-

тельностью, и весьма бедно представлены в лесных почвах (Summerell et al., 2010: 8-11).

Довольно неравномерно были распределены в исследуемых почвах грибы рода *Trichoderma*, на долю которых приходилось от 4,1 до 10,4%. Представители данного рода были изолированы из почвенных образцов целинных земель, а также агроценозов сои,

люцерны и донника (рисунок 1). Некоторые исследователи объясняют способность грибов рода *Trichoderma* существовать в самых разнообразных почвах тем, что они обладают высокой антагонистической и антибиотической активностью, а также способностью к микопаразитированию (Jiang, 2016; Samuels, 1996; Druzhinina 2005: 100).

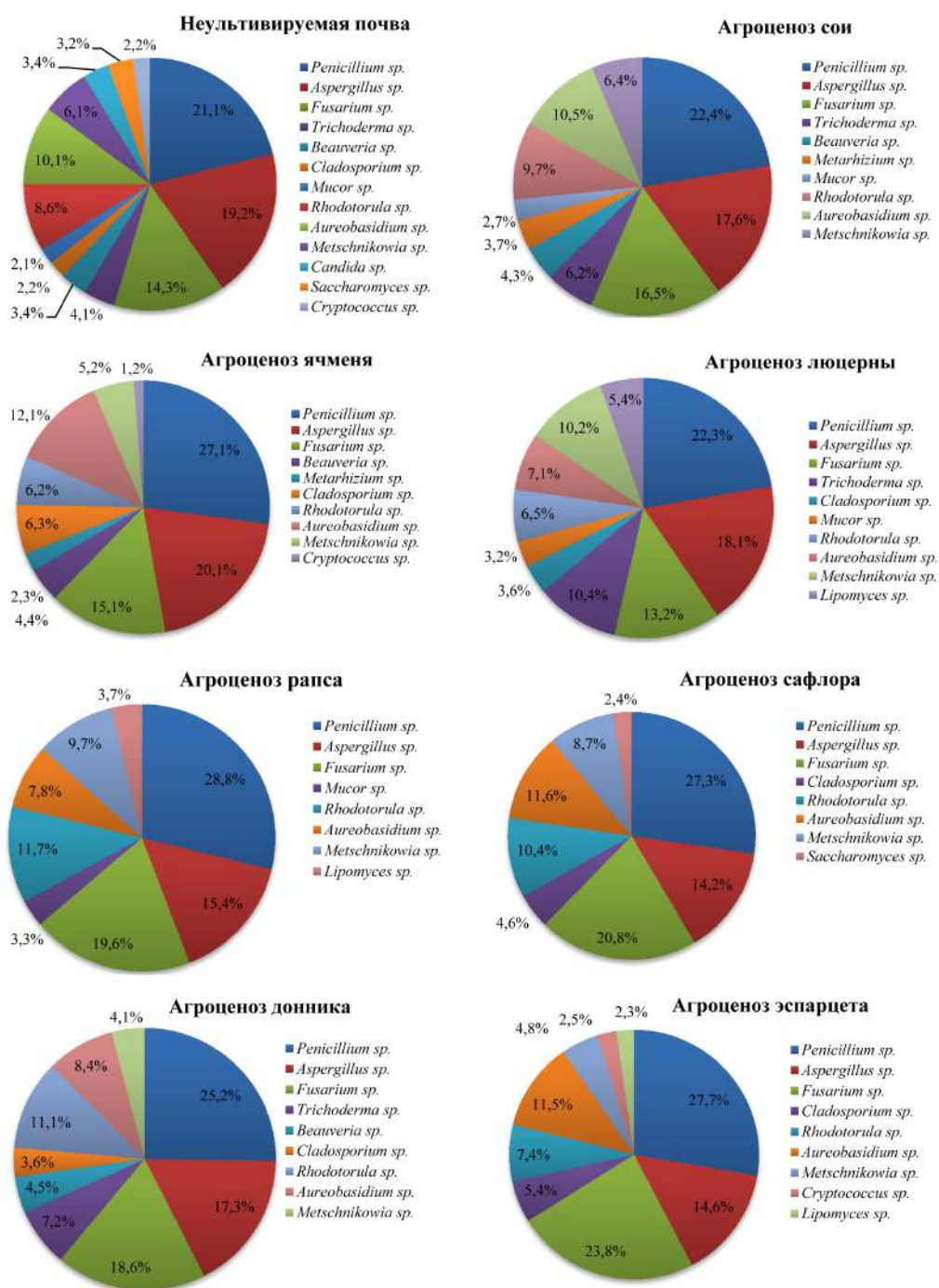


Рисунок 1 – Относительное обилие (%) представителей родов микромицетов в исследуемых почвенных образцах

Во всех исследуемых некультивируемых и культивируемых почвах за исключением агроценозов сои и рапса были обнаружены грибы с темноцветным мицелием – *Cladosporium*. Относительное обилие грибов данного рода варьировало в диапазоне от 2,2 до 7,3% в зависимости от исследуемого почвенного образца (рисунок 1). Темнокрашенные грибы содержат в мицелии и спорах черный пигмент сложной полимерной структуры, наличие которого определяет защитные свойства грибов рода *Cladosporium* против облучения, и дает им возможность существовать в условиях повышенной электромагнитной радиации, в том числе УФ-излучения, какие имеют место в горных и пустынных почвах (Bensch, 2010).

Среди дрожжей в культивируемых почвах преобладали представители родов *Aureobasidium* (7,1-12,1%), *Rhodotorula* (6,2-11,7%) и *Metschnikowia* (4,1-10,2%). Доля дрожжей родов *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces* и *Cryptococcus* была значительно меньше и составила от 1,2 до 5,4% (рисунок 1). По-видимому, существование этих дрожжей в почве связано с их способностью выдерживать лимитирующие условия, в первую очередь периодическое иссушение и высокую солнечную инсоляцию.

Характерной особенностью являлось выявление представителей родов *Metarhizium* и *Lipomyces* в почвенных образцах агроценозов, в то время как в целинной почве данные роды не были обнаружены.

В проведенных исследованиях дрожжи рода *Lipomyces* были обнаружены в почвах агроценозов люцерны, рапса и эспарцета, где их количество не превышало 3,7% (рисунок 1). Данные дрожжи наиболее приспособлены к обитанию на твердых поверхностях почвенных частиц. Они обладают слизистыми капсулами, которые создают межклеточную среду, сохраняющую благоприятный режим влагообмена и питания в условиях временного иссушения почвы. *Lipomyces* являются автохтонными почвенными дрожжами, адаптированными к существованию в минеральной части почв и не встречающимися в других субстратах (Bab'eva, 1995; Botha, 2011).

Распределение видов и родов микромицетов в комплексе с учетом их встречаемости характеризует структуру комплекса. Анализ пространственной частоты встречаемости позволил выявить доминирующие, частые и редкие роды в микромицетных сообществах почв агроценозов кормовых и зерновых культур.

Таблица 1 – Пространственная частота встречаемости (%) микромицетов в исследуемых почвенных образцах

Род \ Агроценоз	Некультивируемая почва	Соя	Ячмень	Люцерна	Рапс	Сафлор	Донник	Эспарцет
<i>Penicillium</i>	100	87	93	80	93	87	93	93
<i>Aspergillus</i>	93	80	93	87	73	73	67	87
<i>Fusarium</i>	100	93	73	93	87	87	67	80
<i>Trichoderma</i>	47	40	-	53	-	-	47	-
<i>Beauveria</i>	27	24	20	-	-	-	20	-
<i>Metarhizium</i>	-	20	13	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i>	20	-	13	6	-	13	13	6
<i>Mucor</i>	27	24	-	24	20	-	-	-
<i>Rhodotorula</i>	93	93	87	93	80	73	73	87
<i>Aureobasidium</i>	80	87	80	73	80	80	87	93
<i>Metschnikowia</i>	80	73	73	67	80	87	60	53
<i>Cryptococcus</i>	27	-	-	-	-	-	-	20
<i>Candida</i>	13	-	13	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	20	-	13	-	-	20	-	-
<i>Lipomyces</i>	-	-	47	47	40	-	-	33

Из данных таблицы 1 видно, что в структуре грибных сообществ всех исследуемых почв с высокими значениями пространственной частоты встречаемости (от 67 до 100%) доминировали грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*. В достаточной мере почвы богаты грибами рода *Trichoderma*, частота встречаемости которого составляла от 40 до 53%, данный род отнесен к частым. Представители родов *Beauveria*, *Metarhizium*, *Cladosporium* и *Mucor* являлись редкими, частота встречаемости не превышала 27%.

Доминирующее положение среди дрожжей в целинной почве и почвах агроценозов занимали различные виды родов *Rhodotorula* и *Aureobasidium*, частота встречаемости которых составляла от 60 до 93% в зависимости от исследуемого образца. Аскомицетовые дрожжи рода *Metschnikowia* так же являлись доминантными в некультивируемой почве и во всех почвах агроценозов, за исключением почвы под посевами эспарцета, где частота встречаемости данного рода была 53%, соответственно данный род является частым для данного агроценоза. Частые роды представлены Дрожжи рода *Lipomyces*, частота встречаемости которых варьировала в диапазоне от 33 до 47%, отнесены к частым родам. Редкие роды дрожжевых организмов

представлены различными видами *Cryptococcus*, *Candida* и *Saccharomyces* (таблица 1).

Выводы

В результате проведенных исследований изучена таксономическая структура микромицетных сообществ некультивируемой почвы и почв агроценозов 7 зерновых и кормовых культур. Мицелиальные грибы, изолированные из исследованных почвенных образцов, отнесены к 8 родам: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Metarhizium* и *Beauveria*. Дрожжевые организмы представлена родами *Aureobasidium*, *Rhodotorula*, *Metschnikowia*, *Lipomyces*, *Candida*, *Saccharomyces* и *Cryptococcus*. Почвы под посевами агрокультур по сравнению с целинными характеризовались меньшим родовым разнообразием. Основными компонентами сообществ грибов являлись различные виды родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*. На долю каждого из данных родов приходилось от 13,2 до 28,8%, частота встречаемости составила от 67 до 100%. Среди дрожжей как по относительному обилию, так и по частоте встречаемости преобладали представители родов *Aureobasidium*, *Rhodotorula* и *Metschnikowia*.

Литература

- 1 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии – М.: МГУ, 1991. – 304 с.
- 2 Кураков А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем. – М.: МАКС Пресс, 2001. – 92 с.
- 3 Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. – М.: Медицина для всех, 2005. – 196 с.
- 4 Мирчинк Г. Т. Почвенная микология. – М.: МГУ, 1988. – 224 с.
- 5 Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. – М.: Наука, 2007. – 215 с.
- 6 Alef, K. and P. Nannipieri, eds., Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. London: Academic Press; 1995.
- 7 Anderson, C., Beare, M., Buckley, H.L., Lear, G. "Bacterial and fungal communities respond differently to varying tillage depth in agricultural soils." PeerJ. (2017): e3930. doi: 10.7717/peerj.3930
- 8 Bab'eva, I.P., Chernov, I.Yu. "Geographical aspects of yeast ecology." Physiology and General Biology Reviews 9 (1995):1–54.
- 9 Barnett, H.L., Hunter, B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Amer Phytopathological Society, 1998
- 10 Barriga, E.J.C., Libkind, D., Briones, A.I., ÚbedaIranzo, J., et al. "Yeasts Biodiversity and Its Significance: Case Studies in Natural and Human-Related Environments, Ex Situ Preservation, Applications and Challenges." In Changing Diversity in Changing Environment, edited by O. Grillo and G. Venora, 55-86. InTech, 2011
- 11 Bensch, K., Groenewald, J.Z., Dijksterhuis, J., et al. "Species and ecological diversity within the Cladosporium cladosporioides complex (Davidiellaceae, Capnodiales)." Stud Mycol 67 (2010): 1-94. doi: 10.3114/sim.2010.67.01
- 12 Bills, G.F., Christensen, M., Powell, M.J., Thorn, G. "Saprobic soil fungi." In Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods, edited by G. M. Mueller, G. F. Bills, and M. S. Foster, 271 – 302. Elsevier Academic Press Burlington, 2004
- 13 Botha, A. "The importance and ecology of yeasts in soil." Soil Biology & Biochemistry 43(2011):1-8.
- 14 Bridge, P., Spooner, B. "Soil fungi: diversity and detection." Plant and Soil 232 (2001): 147-54. doi.org/10.1023/A:1010346305799.
- 15 Buzzini, P., Lachance, M-A., Yurkov, A., eds. Yeasts in Natural Ecosystems: Ecology. Springer International Publishing, 2017.
- 16 Carlile, M.J., Watkinson, S.C. The Fungi. London: Academic press, 2001.
- 17 Christensen, M., Frisvad, J.C., Tuthill, D.E. "Penicillium species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes." In: Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification edited by R.A. Samson, J.I. Pitt, 309–321. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 2000

- 18 Druzhinina, I., Kubicek, C.P. "Species concepts and biodiversity in Trichoderma and Hypocrea: from aggregate species to species clusters?" *Journal of Zhejiang University Science* 6B (2005): 100–112. <http://doi.org/10.1631/jzus.2005.B0100>
- 19 Ellis, M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. International Mycological Institute, 1988.
- 20 Erland, Susanne, and A.F.S. Taylor. "Diversity of ecto-mycorrhizal fungal communities in relation to the abiotic environment." In *Mycorrhizal ecology. Ecological studies*, edited by M.G.A. van der Heijden, and I. Sanders, 163-200. Berlin: Springer, Heidelberg, 2002.
- 21 Foissner, W. "Biogeography and Dispersal of Microorganisms: A Review Emphasizing Protists." *Acta Protozoologica* 45 (2006): 111-136.
- 22 Fontaneto, D. and Joaquín Hortal. "Microbial Biogeography: Is Everything Small Everywhere?" In *Microbial Ecological Theory*, edited by L.A. Ogilvie and P.R. Hirsch, 87–98. Horizon Scientific Press, 2012.
- 23 Jiang, Y., Wang, J.-L., Chen, J., Mao, L.-J., Feng, X.-X., Zhang, C.-L., et al. "Trichoderma Biodiversity of Agricultural Fields in East China Reveals a Gradient Distribution of Species." *PLoS ONE* 11 (2016): e0160613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160613>
- 24 Kivlin, S.N., Hawkes, C.V., and Treseder, K.K. "Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi." *Soil Biol. Biochem.* 43 (2011): 2294–303. <doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.07.012>.
- 25 Klich, M.A. "Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter." *Mycologia* 94 (2002): 21-7.
- 26 Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T. *The yeasts: a taxonomic study*. Burlington: Elsevier Science, 2011.
- 27 Martiny, J.B., Bohannan, B.J., Brown, J.H., Colwell, R.K., et al. "Microbial biogeography: putting microorganisms on the map." *Nat Rev Microbiol.* 4 (2006): 102-12. <doi:10.1038/nrmicro1341>
- 28 Samuels, G.J. "Trichoderma: a review of biology and systematics of the genus." *Mycol Res* 100 (1996): 923–935. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80043-8](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80043-8)
- 29 Summerell, B.A., Laurence, M.H., Liew, E.C.Y., Leslie, J.F. "Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: A review." *Fungal Divers* 44 (2010): 3–13.
- 30 Taylor, L.D., Sinsabaugh, R. L. "The Soil Fungi: Occurrence, Phylogeny, and Ecology." In *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, edited by Eldor A. Paul, 77-109. Academic Press, 2015.
- 31 Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.-B., Klaassen, C.H.W., et al. "Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*." *Studies in Mycology* 78 (2014): 343–371. <http://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
- 32 Watanabe, T. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. New-York: CRC Press, 2010.
- 33 Willis, A., Rodrigues, B., Harris, P. "The ecology of arbuscularmycorrhizal fungi." *Crit. Rev. Plant Sci.* 32 (2013): 1–20. <doi.org/10.1080/07352689.2012.683375>.
- 34 Yang, F.Y., Li, G.Z., Zhang, D.E., Christie, P., Li, X.L., Gai, J.P. "Geographical and plant genotype effects on the formation of arbuscular mycorrhiza in *Avena sativa* and *Avenanuda* at different soil depths." *Biol Fertil Soils* 46 (2010): 435-443. [doi: 10.1007/s00374-010-0450-3](doi:10.1007/s00374-010-0450-3).
- 35 Yurkov, A.M., Kemler, M., Begerow, D. "Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes." *Fungal Ecology* 5 (2012): 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.07.004>
- 36 Zak, J.C., Willig, M.R. "Fungal biodiversity patterns." In: *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*, edited by G. M. Mueller, G. F. Bills, and M. S. Foster. Elsevier Academic Press Burlington, 2004.

References

- 1 Alef, K. and P. Nannipieri, eds., *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. London: Academic Press; 1995.
- 2 Anderson, C., Beare, M., Buckley, H.L., Lear, G. "Bacterial and fungal communities respond differently to varying tillage depth in agricultural soils." *PeerJ.* (2017): e3930. [doi: 10.7717/peerj.3930](doi:10.7717/peerj.3930)
- 3 Bab'eva, I.P., Chernov, I.Yu. "Geographical aspects of yeast ecology." *Physiology and General Biology Reviews* 9 (1995): 1-54.
- 4 Barnett, H.L., Hunter, B.B. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Amer Phytopathological Society, 1998
- 5 Barriga, E.J.C., Libkind, D., Briones, A.I., Úbeda-Iranzo, J., et al. "Yeasts Biodiversity and Its Significance: Case Studies in Natural and Human-Related Environments, Ex Situ Preservation, Applications and Challenges." In *Changing Diversity in Changing Environment*, edited by O. Grillo and G. Venora, 55-86. InTech, 2011.
- 6 Bensch, K., Groenewald, J.Z., Dijksterhuis, J., et al. "Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales)." *Stud Mycol* 67 (2010): 1-94. [doi: 10.3114/sim.2010.67.01](doi:10.3114/sim.2010.67.01)
- 7 Bills, G.F., Christensen, M., Powell, M.J., Thorn, G. "Saprobic soil fungi." In *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*, edited by G. M. Mueller, G. F. Bills, and M. S. Foster, 271 – 302. Elsevier Academic Press Burlington, 2004.
- 8 Botha, A. "The importance and ecology of yeasts in soil." *Soil Biology & Biochemistry* 43(2011): 1-8.
- 9 Bridge, P., Spooner, B. "Soil fungi: diversity and detection." *Plant and Soil* 232 (2001): 147-54. <doi.org/10.1023/A:1010346305799>.
- 10 Buzzini, P., Lachance, M.-A., Yurkov, A., eds. *Yeasts in Natural Ecosystems: Ecology*. Springer International Publishing, 2017.
- 11 Carlile, M.J., Watkinson, S.C. *The Fungi*. London: Academic press, 2001.
- 12 Christensen, M., Frisvad, J.C., Tuthill, D.E. "Penicillium species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes." In: *Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification* edited by R.A. Samson, J.I. Pitt, 309–321. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 2000.

- 13 Druzhinina, I., Kubicek, C.P. "Species concepts and biodiversity in Trichoderma and Hypocrea: from aggregate species to species clusters?" *Journal of Zhejiang University Science* 6B (2005): 100–112. <http://doi.org/10.1631/jzus.2005.B0100>
- 14 Ellis, M.B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. International Mycological Institute, 1988
- 15 Erland, Susanne, and A.F.S. Taylor. "Diversity of ecto-mycorrhizal fungal communities in relation to the abiotic environment." In *Mycorrhizal ecology. Ecological studies*, edited by M.G.A. van der Heijden, and I. Sanders, 163-200. Berlin: Springer, Heidelberg, 2002.
- 16 Foissner, W. "Biogeography and Dispersal of Microorganisms: A Review Emphasizing Protists." *Acta Protozoologica* 45 (2006): 111-136.
- 17 Fontaneto, D. and Joaquín Hortal. "Microbial Biogeography: Is Everything Small Everywhere?" In *Microbial Ecological Theory*, edited by L.A. Ogilvie and P.R. Hirsch, 87–98. Horizon Scientific Press, 2012.
- 18 Jiang, Y., Wang, J-L., Chen, J., Mao, L-J., Feng, X-X., Zhang, C-L., et al. "Trichoderma Biodiversity of Agricultural Fields in East China Reveals a Gradient Distribution of Species." *PLoS ONE* 11 (2016): e0160613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160613>
- 19 Kivlin, S.N., Hawkes, C.V., and Treseder, K.K. "Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi." *Soil Biol. Biochem.* 43 (2011): 2294–303. <doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.07.012>.
- 20 Klich, M.A. "Biogeography of Aspergillus species in soil and litter." *Mycologia* 94(2002):21-7.
- 21 Kurakov A.V. (2001) *Metody vyideleniya i harakteristiki kompleksov mikroskopicheskikh gribov nazemnykh ekosistem [Methods of isolation and characteristics of complexes of microscopic fungi of terrestrial ecosystems]*. – Moscow: MAKS Press. – 92 p.
- 22 Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T. *The yeasts: a taxonomic study*. Burlington: Elsevier Science, 2011.
- 23 Marfenina O.E. (2005) *Antropogennaya ekologiya pochvennykh gribov [Anthropogenic ecology of soil fungi]*. – Moscow: Meditsina dlya vseh. – 196 p.
- 24 Martiny, J.B., Bohannan, B.J., Brown, J.H., Colwell, R.K., et al. "Microbial biogeography: putting microorganisms on the map." *Nat Rev Microbiol.* 4 (2006): 102-12. <doi:10.1038/nrmicro1341>
- 25 Mirchink G.T. (1998) *Pochvennaya mikologiya [Soil mycology]*. – Moscow: MSU. – 224 p.
- 26 Samuels, G.J. "Trichoderma: a review of biology and systematics of the genus." *Mycol Res* 100 (1996): 923–935. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80043-8](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80043-8)
- 27 Summerell, B.A., Laurence, M.H., Liew, E.C.Y., Leslie, J.F. "Biogeography and phylogeography of Fusarium: A review." *Fungal Divers* 44 (2010): 3–13.
- 28 Taylor, L.D., Sinsabaugh, R. L. "The Soil Fungi: Occurrence, Phylogeny, and Ecology." In *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, edited by Eldor A. Paul, 77-109. Academic Press, 2015.
- 29 Terehova V.A. (2007) *Mikromitsetyi v ekologicheskoy otsenke vodnykh i nazemnykh ekosistem [The mikromicets in ecology's mates of water and land ecosystems]*. – Moscow: Nauka. – 215 p.
- 30 Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.-B., Klaassen, C.H.W., et al. "Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*." *Studies in Mycology* 78 (2014): 343–371. <http://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
- 31 Watanabe, T. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. New-York: CRC Press, 2010.
- 32 Willis, A., Rodrigues, B., Harris, P. "The ecology of arbuscularmycorrhizal fungi." *Crit. Rev. Plant Sci.* 32 (2013):1–20. <doi.org/10.1080/07352689.2012.683375>.
- 33 Yang, F.Y., Li, G.Z., Zhang, D.E., Christie, P., Li, X.L., Gai, J.P. "Geographical and plant genotype effects on the formation of arbuscular mycorrhiza in *Avena sativa* and *Avenanuda* at different soil depths." *Biol Fertil Soils* 46 (2010): 435-443. [doi: 10.1007/s00374-010-0450-3](doi:10.1007/s00374-010-0450-3).
- 34 Yurkov, A.M., Kemler, M., Begerow, D. "Assessment of yeast diversity in soils under different management regimes." *Fungal Ecology* 5 (2012): 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.07.004>
- 35 Zak, J.C., Willig, M.R. "Fungal biodiversity patterns." In: *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*, edited by G. M. Mueller, G. F. Bills, and M. S. Foster. Elsevier Academic Press Burlington, 2004.
- 36 Zvyagintsev D.G. (1991) *Metody pochvennoy mikrobiologii i biohimii [Methods of soil microbiology and biochemistry]*. – Moscow: MSU. – 304 p.

Дуйсенбаева У.¹, Терлецкая Н.², Курманбаева М.³

¹студент магистратуры 2 курса кафедры биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: duisenbayeva.ulzhan@gmail.com

²кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы, e-mail: teni02@mail.ru

³доктор биологических наук, зав. кафедрой биоразнообразия и биоресурсов Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, e-mail: kurmanbayevakz@gmail.com

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ
ПРОРОСТКОВ НУТА (*CICER ARIETINUM* L.)**

Поскольку избыток соли в среде произрастания можно рассматривать как один из неблагоприятных факторов для растений, то устойчивость растений к засолению приобретает дополнительный интерес. Повышенная засуха может сказаться на развитии растения на любой стадии онтогенеза, а почвенное засоление влияет на растение с самого начала его жизни. Поэтому способность растения на ранней стадии выживать и развиваться в условиях повышенных концентраций соли – один из важнейших биологических признаков, а ростовая реакция проростков на стрессовые условия – один из наглядных показателей изменения их метаболизма. Поэтому целью данной работы являлось изучение влияния солевого стресса на ростовые реакции проростков нута. Нут (*Cicer arietinum* L.) – важная сельскохозяйственная и самая засухоустойчивая зернобобовая культура, которая способна в жестких условиях давать хорошие урожаи, однако данная культура очень чувствительна к засолению почвы. Изучали воздействие раствора NaCl в концентрациях 0,6 и 1,26% на 10-дневные проростки нута. Оценивали рост, накопление биомассы, анатомические особенности побегов и корней проростков нута в экспериментальных и контрольных условиях. Экспериментально выявлено, что солевой стресс оказывал негативное влияние на рост и накопление биомассы как надземной части проростков, так и корней. Под влиянием солевого стресса существенно снижалось содержание воды в органах растения. Выявлен ряд негативных изменений в анатомической структуре стебля и корня молодых растений. Негативные изменения усиливались с увеличением степени и времени стрессового воздействия.

Ключевые слова: нут (*Cicer arietinum* L.), засоление, ростовые реакции, проростки нута, анатомические параметры.

Duisenbayeva U.¹, Terletskaia N.², Kurmanbayeva M.³

¹second year master degree student of Biodiversity and Bioresources department of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: duisenbayeva.ulzhan@gmail.com

²candidate of biological sciences, Senior Researcher of Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty, e-mail: teni02@mail.ru

³doctor of biological sciences, head of Biodiversity and Bioresources department of Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, e-mail: kurmanbayevakz@gmail.com

Affect of salt stress on the growth reactions of the chickpea seedlings (*Cicer arietinum* L.)

Since excess salt in the growing medium can be considered as one of the adverse factors for plants, plant resistance to salinity acquires the additional interest. Increased drought can affect the development of the plant at any stage of ontogenesis, and soil salinity affects the plant from the very beginning of its life. Therefore, the ability of the plant to survive and develop at an early stage in conditions of elevated salt concentrations is one of the most important biological features, and the growth reaction of sprouts to stressful conditions is one of the visual indicators of their metabolism changes. Therefore, the aim of

this work is to study the influence of salt stress on the growth reactions of chickpea sprouts. Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) is an important agricultural and drought-resistant leguminous crop, which is able to produce good yields in harsh conditions, but this crop is very sensitive to salinity. The effect of NaCl solution in concentrations of 0.6 and 1.26% on 10 - day chickpea sprouts was studied. Growth, biomass accumulation, anatomical features of shoots and roots of chickpea sprouts under experimental and control conditions were evaluated. It was experimentally revealed that salt stress had a negative impact on the growth and biomass accumulation both above-ground part of seedlings and root. Under the influence of salt stress significantly decreased water content in plant bodies. A number of negative changes in the anatomical structure of the stem and root of young plants were revealed. Negative changes were intensified with the increase in the degree and time of stress.

Key words: chickpeas (*Cicer arietinum* L.), salinity, growth reactions, chickpea sprouts, anatomical parameters.

Дуйсенбаева У.¹, Терлецкая Н.², Курманбаева М.³

¹магистратураның 2 курс студенті, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті биология және биотехнология факультеті, Қазақстан, Алматы қ.,
e-mail: duisenbayeva.ulzhan@gmail.com

²биология ғылымдарының кандидаты, Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институтының аға ғылыми қызметкері, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: teni02@mail.ru

³биология ғылымдарының докторы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті биология және биотехнология факультетінің биоалуантүрлілік және биоресурс кафедрасының меңгерушісі, Қазақстан, Алматы қ., e-mail: kurmanbayevakz@gmail.com

ноқат өсінділерінің өсу реакцияларына тұзды стресстің әсері (*Cicer arietinum* L.)

Тұздың өсетін ортада өсімдіктер үшін қолайсыз факторлардың бірі ретінде қарастыруға болатындықтан, өсімдіктердің тұздануға тұрақтылығы қосымша қызығушылық тудырады. Жоғары құрғақшылық өсімдіктердің кез келген даму сатысында әсер етуі мүмкін, ал топырақтың тұздануы өсімдік өмірінің басынан бастап әсер етеді. Сондықтан, өсімдіктердің ерте даму сатысында тұздың жоғары концентрациялар жағдайында өмір сүру және даму қабілеті – маңызды биологиялық белгілердің бірі, ал өсінділердің стресстік жағдайларда өсу реакциясы – олардың метаболизмінің өзгеруінің көрнекі көрсеткіштерінің бірі. Сондықтан бұл жұмыстың мақсаты ноқат өсінділерінің тұздық стресстің өсу реакцияларына әсерін зерттеу болып табылады. Ноқат (*Cicer arietinum* L.) – маңызды ауылшаруашылық және құрғақшылыққа ең төзімді дәнді-бұршақты дақыл, ол қатаң жағдайларда да жақсы өнім беруге қабілетті, алайда бұл өсімдік топырақ тұздануына өте сезімтал болып табылады. Сонымен әсер ерітінді NaCl концентрациядағы 0,6 және 1,26% 10 күндік проростки сөнеді. NaCl ерітіндісінің 0,6 және 1,26% концентрацияда 10 күндік өсінділерге әсерін зерттедік. Ноқат өсінділерінің өсуін, биомасса жинақтауын, өркендер мен тамырлардың анатомиялық ерекшеліктерін эксперименттік және бақылау жағдайларында бағаладық. Эксперименттік түрде тұзды стресс өсінділердің жер бетіндегі бөлігінің, сондай-ақ тамырының өсуі және биомасса жинақтауына кері ықпалын тигізетіндігі анықталды. Тұзды стресс әсерінен өсімдіктер органдарында судың мөлшері айтарлықтай төмендеген. Жас өсімдіктер сабақтарының және тамырларының анатомиялық құрылымында бірқатар теріс өзгерістер анықталды. Стресстік әсердің дәрежесі мен уақыты артуына байланысты теріс өзгерістер күшейе түсті.

Түйін сөздер: ноқат (*Cicer arietinum* L.), тұздылық, өсу реакциялары, ноқат өсінділері, анатомиялық көрсеткіштер.

Введение

По данным ООН (Climate and disaster resilience, 2015) приблизительно половина поверхности суши в мире представлена пустынными или засушливыми землями и около 70% земель сельскохозяйственного назначения подвержены засолению. Постоянный рост человеческой популяции означает необходимость увеличения площади производства сельскохозяйственных культур и повышения их урожайности, в том числе и на стрессовых фонах. Это требует активизации исследований

в области изучения уязвимости, адаптационной способности растений и их стрессоустойчивости (Mafakheri, 2010: 580), (Rameshwaran, 2016: 49), (Tsegazeabe, 2012: 96).

Нут (*Cicer arietinum* L.) является важной сельскохозяйственной культурой различных стран, широко выращивается в странах Азии, в том числе и странах Среднеазиатского региона. Это самая засухоустойчивая зернобобовая культура, которая способна в жестких условиях давать хорошие урожаи ценного зерна (Федотов, 2004: 50), (Коломейченко, 1972: 33), (Корнев, 1990: 575), однако нут считается очень чувстви-

тельным к засолению почвы (Khan, 2016: 23), (Flowers, 2010: 490). В научных исследованиях были зафиксированы различные эффекты стрессового воздействия засоления на нут, но задействованные при этом биологические механизмы устойчивости/чувствительности до сих пор остаются невыясненными (Vadez, 2007: 123), (Turner, 2013: 347).

Эксперименты на проростках на протяжении многих десятилетий являются эффективной модельной системой изучения множества физиологических процессов в растениях. Хорошо известно, что потери хозяйственной части урожая наиболее велики, если растение подверглось стрессу на ювенильной стадии (Абдуллаев, 2008: 7), (Винокуров, 2001: 66) (Васин, 2006: 28). Одним из самых наглядных показателей изменения метаболизма растения при стрессе является торможение роста. Поэтому целью данной работы было выявление ростовых реакций проростков нута в ответ на засоление среды.

Материалы и методы

Объектом исследования послужил сорт нута Сэтти. Семена по форме напоминают баранью голову (отсюда и название) – этому способствует бугорчато-шершавая поверхность. Диаметр плодов составляет 0,5-1,5 см. Окрашены они в желтый цвет. 1000 семян весят 150-300 г. При лабораторной оценке ростовых характеристик проростков за основу были взяты методики Удовенко (Удовенко, 1988а: 89), (Удовенко, 1979б: 99). Семена нута были пророщены в чашках Петри по 15 штук в 6 повторностях в темноте, затем, после культивирования на воде в течение 7 суток на свету при температуре 26 ± 2 °C и освещении 3000 люкс. По 3 повторности (опытный вариант) были помещены в 0,6% и 1,26% раствор NaCl на 3 суток и в 1,26% раствор NaCl на 7 суток, а три продолжали культивировать на воде (контроль).

Измеряли линейные показатели длины побега и первичного корня в контрольных и стрессовых условиях и весовые характеристики накопления биомассы. Общую оводненность побега и корня рассчитывали по формуле:

$$OB = (a - b) : a,$$

где а – первоначальная масса, мг; б – масса после высушивания при 105 °C, мг.

Для анатомических исследований материал фиксировался по методике Страсбургера-

Флемминга в растворе – спирт, глицерин, вода в соотношении 1:1:1. Анатомические срезы из зафиксированных материалов были сделаны вручную и на микротоме МЗП-01. Измерения и микрофотографии сделаны камерой 519 CU5.0M CMOS видеомикроскопа MCX100 Micros Austria.

Все данные статистически обработаны, в таблицах приведены средние значения, стандартные отклонения от средней и процентные соотношения показателей. Достоверность различий между показателями определялась с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости $\geq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Если засуха может застигнуть растение на любом этапе онтогенеза, то почвенное засоление влияет на растение с самого начала его жизни. Поэтому способность растительного организма на начальном этапе своего развития эффективно использовать влагу в условиях повышенной концентрации почвенных солей – один из важнейших биологических и хозяйственно-ценных признаков, а ростовая реакция проростков на стрессовые условия – один из наглядных показателей изменения их метаболизма (Удовенко 1988: 89). Важными параметрами, характеризующими темпы роста в стрессовых условиях, являются изменения линейных показателей роста, соотношение размеров корневой и надземной частей растения и способность к накоплению биомассы (Pitman, 1984: 93), (Munns, 2005: 645).

В таблице 1 представлены результаты наблюдения за тем, как изменятся параметры ростовых процессов проростков нута в условиях воздействия солевого стресса различной интенсивности в течение 3 суток.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, на фоне 3-дневного засоления отмечалось снижение линейных и весовых параметров как корня, так и побега нута, для побега различие значений линейных параметров опытного и контрольного варианта при обеих концентрациях соли было существенным, а весовых – при 1,26% концентрации NaCl, тогда как длина корня в обоих вариантах стрессового воздействия изменялась незначительно, хотя в целом увеличение концентрации соли приводило к большему снижению ростовых показателей.

Таблица 1 – Влияние солевого стресса на ростовые процессы у проростков нута (*Cicer arietinum*) в условиях солевого стресса (NaCl, 0,6%, 1,26%, 3 суток)

Параметры измерения	Контроль	NaCl, 0,6%	% к контролю	NaCl, 1,26%	% к контролю
Длина корня, см	2,8 ± 0,8	1,9 ± 0,6	68	1,6 ± 0,4	57
Длина побега, см	4,3 ± 1,2	2,8 ± 0,5	65	1,8 ± 0,4	42
Соотношение корень/ побег, %	65	68	104	89	136
Прирост биомассы корня, г	1,81 ± 0,51	1,2 ± 0,66	66	0,91 ± 0,53	50
Прирост биомассы побега, г	2,72 ± 0,32	1,83 ± 0,75	67	1,22 ± 0,62	45
Относительная оводненность корня, %	28	22	79	16	57
Относительная оводненность побега, %	33	33	100	11	33

Как следует из данных, приведенных в таблице 2, увеличение продолжительности стрессового воздействия на проростки нута приводило к еще большему снижению ростовых параметров побега, но рост корня, напротив, стабилизировался (от 57% к контролю на 3 сутки до 63,6% контролю после 7-дневного воздействия 1,26% NaCl).

Показатели накопления биомассы растительными тканями так же говорят об усилении негативного влияния на накопление биомассы надземной части проростков, но не корня. Об этом свидетельствуют и изменения соотноше-

ний размеров корневой и надземной частей растения от 65% до 68 и 89% при трехдневном воздействии NaCl в 0,6 и 1,26% концентрациях соответственно и с 43% в контроле до 175% при 7-дневном воздействии стрессовых условий.

Считается, что солевой стресс, немаловажной составляющей которого является осмотический компонент, всегда приводит к большему или меньшему обезвоживанию растительных тканей. Поэтому для нас представлял интерес такой показатель, как оводненность побега и корня проростков нута в моделируемых условиях засоления.

Таблица 2 – Влияние солевого стресса на ростовые процессы у проростков нута (*Cicer arietinum*) в условиях солевого стресса (NaCl, 1,26%, 7 суток)

Параметры измерения	Контроль	Стресс	% к контролю
Длина корня, см	3,3 ± 0,7	2,1 ± 0,6	63,6
Длина побега, см	7,6 ± 2,6	1,2 ± 0,4	15,7
Соотношение длины корень/ побег, %	43	175	407
Прирост биомассы корня, г	2,67 ± 0,2	1,92 ± 1,2	72
Прирост биомассы побега, г	3,63 ± 0,8	1,36 ± 0,6	41
Относительная оводненность корня, %	18	11	61
Относительная оводненность побега, %	29	15	52

Из данных, представленных в таблицах 1 и 2, следует, что содержание воды в органах мо-

лодых растений нута снижалось с увеличением концентрации и несколько стабилизировалось

при увеличении продолжительности стрессового воздействия, составив для побега 100 – 33 – 52% соответственно от контрольного значения и 79 – 57 – 61% от контрольного значения для корня.

В целом, полученные нами экспериментальные данные по морфофизиологическим

параметрам роста свидетельствуют о том, что корневая система проростков нута была менее чувствительна к повреждающему действию солевого стресса, чем надземные органы.

Воздействие NaCl отразилось и на анатомических параметрах корня и стебля проростков нута (Рисунки 1, 2).

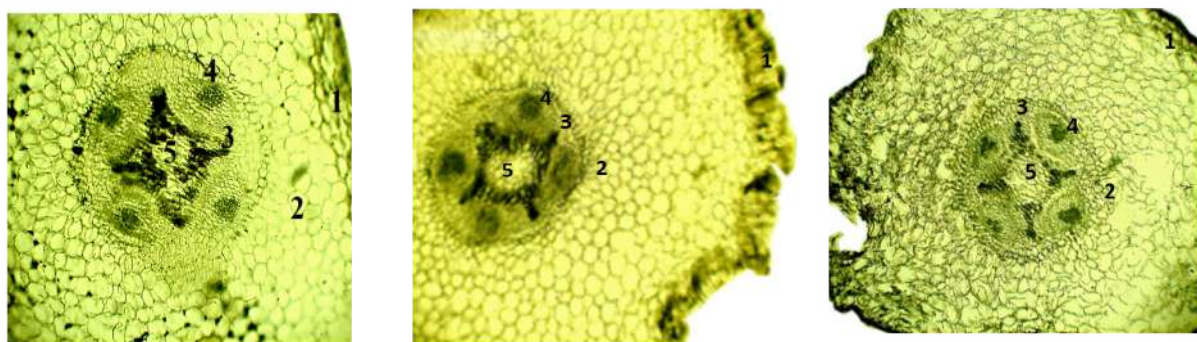


Рисунок 1 – Анатомическое строение первичного корня нута *Cicer arietinum* L. (а – контроль, б – NaCl, 0,6%, в – NaCl, 1,26%, 3 суток; 1 – эпидермис, 2 – эндодерма, 3 – ксилема, 4 – флоэма, 5 – центральный цилиндр)

Как следует из данных, представленных в таблице 3, под влиянием различных кон-

центраций засоления менялись морфометрические показатели первичного корня.

Таблица 3 – Влияние солевого стресса на анатомическое строение корня проростков нута (*Cicer arietinum* L.) в условиях солевого стресса (NaCl, 0,6%, 1,26%, 3 суток)

Растительная ткань	Контроль, μm	NaCl, 0,6%, μm	NaCl, 0,6% % к контролю	NaCl, 1,26%, μm	NaCl, 1,26%, % к контролю
Эпидермис	$0,449 \pm 0,02$	$0,246 \pm 0,04$	54,7	$0,299 \pm 0,04$	66,5
Эндодерма	$0,218 \pm 0,03$	$0,299 \pm 0,07$	138,1	$0,138 \pm 0,01$	63,3
Ксилема	$0,538 \pm 0,1$	$0,340 \pm 0,09$	63,1	$0,235 \pm 0,03$	43,6
Флоэма	$0,772 \pm 0,02$	$0,445 \pm 0,05$	77,9	$0,688 \pm 0,08$	89,1
Диаметр проводящего пучка	$0,998 \pm 0,03$	$0,778 \pm 0,07$	57,6	$0,837 \pm 0,05$	83,8
Диаметр центрального цилиндра	$3,135 \pm 0,01$	$2,963 \pm 0,01$	94,5	$2,923 \pm 0,03$	93,2

Мы наблюдали уменьшение толщины слоя клеток эпидермиса, ксилемы, флоэмы, уменьшение диаметра проводящего пучка и центрального цилиндра. Однако следует заметить, что при меньшей концентрации NaCl негативное влияние на размеры тканей корня были более выражены. Толщина эндодермы, напротив, увеличивалась при 0,6% NaCl до 138,1% от контроля и уменьшалась до 63,3% при 1,26% NaCl. Размеры проводящего пучка снизились в основном за счет размеров ксилемы, основной водопроводя-

щей ткани, на которой негативное воздействие засоления отразилось в наибольшей степени (63,1% и 43,6% к контролю при 0,6% и 1,26% NaCl соответственно). Наблюдаются достоверные изменения в форме и размерах клеток первичной паренхимы корня, а именно нарушение целостности клеток, что наглядно подтверждает негативное влияние высокой концентрации соли (1,26%). Таким образом, на тканях первичного корня отмечен осмотический эффект, вызванный засолением.

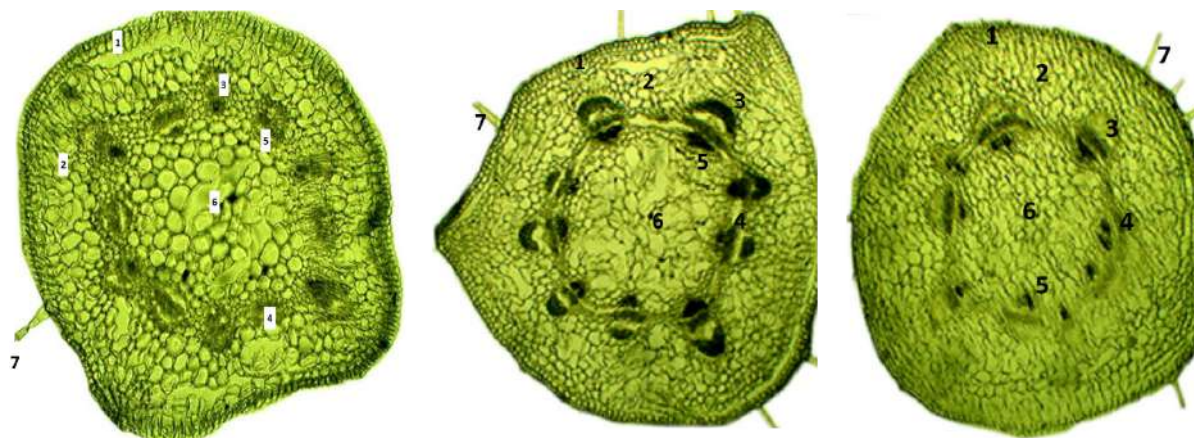


Рисунок 2 – Анатомическое строение первичного стебля нута *Cicer arietinum* L. (а – контроль, б – NaCl, 0,6%, в – NaCl, 1,26%, 3 суток): 1 – эпидермис, 2 – первичная кора, 3 – флоэма, 4 – камбий, 5 – ксилема, 6 – сердцевина, 7 – трихома

Из данных, представленных в таблице 4, можно сделать выводы о том, что осмотическое воздействие солевого стресса выражалось также в подавлении роста ксилемы – ткани, которая переносит воду и растворы минеральных солей от корня к наземным органам. Так как ксилема играет в растении двоякую роль – физиологическую и структурную, обеспечивая опору растущему побегу, уменьшение ее размеров негативно сказывается на росте и развитии молодого растения. На толщину других тканей условия засо-

ления, напротив, оказывали стимулирующее воздействие (в большей степени при меньшей концентрации NaCl). Данный результат объясняется тем, что флоэма проводит питательные вещества, следовательно, соль, проводимая по флоэме, разрушает ткани флоэмы. Камбий в начале роста откладывал нормальную первичную флоэму, далее с появлением действия соли начал разрушаться, между камбием и флоэмой четко разглядываются воздушные полости, образовавшиеся вследствие разрушения клеток.

Таблица 4 – Влияние солевого стресса на анатомические параметры стебля проростков нута (*Cicer arietinum*) в условиях солевого стресса (NaCl, 0,6% и 1,26%, 3 суток)

Растительная ткань	Контроль, мкм	NaCl, 0,6%, мкм	NaCl, 0,6% % к контролю	NaCl, 1,26%, мкм	NaCl, 1,26%, % к контролю
Ксилема	0,260 ± 0,01	0,188 ± 0,09	72,3	0,254 ± 0,03	97,6
Флоэма	0,270 ± 0,07	0,561 ± 0,04	207,7	0,376 ± 0,08	139,2
Диаметр проводящего пучка	0,972 ± 0,03	1,265 ± 0,5	130,1	0,987 ± 0,1	101,5
Эпидермис	0,284 ± 0,05	0,477 ± 0,07	167,9	0,348 ± 0,03	122,5

Почвенное засоление влияет на рост растений путем совмещенного воздействия «осмотического стресса», вызванного более низким осмотическим потенциалом в корневой зоне и «токсического ионного стресса», вызванным избыточным накоплением ионов Na⁺ и Cl⁻ в растительных тканях. Считается, что осмотический компонент солевого стресса влияет на

рост растений сразу после воздействия засоления и наблюдается на протяжении всей продолжительности воздействия солей (Munns, 2002: 239) (Muhammad, 2010: 889). Нут считается очень засухоустойчивой культурой, хорошо переносящей повышенное осмотическое давление среды, однако, в литературе встречаются мнения о том, что именно токсический компонент

засоления является для него доминирующим стрессовым воздействием (Kafi 2011: 55) (Ashagre 2013: 161) (Khalid 2009: 135). Так, исследователями на разных генотипах нута обнаружены отрицательные корреляции роста побегов с концентрацией в побегах или листьях Na^+ (Павленко 2009: 40) (Балашов 2002: 88).

Литературные данные говорят о том, что растения с низким содержанием Na^+ продуцируют больший выход биомассы, у них меньше травмированных листьев и большая пропорция живых листьев по отношению к мертвым и поврежденным (Yeо, 1986: 161), (Shamsi, 2010: 197). В стрессовых условиях уровень Na^+ может быть ниже в побегах, если ионы Na^+ накапливаются в корнях, так как меньше Na^+ затем входит в ксилему и достигает побега (Munns, 2008: 651).

Однако наши экспериментальные данные свидетельствуют в пользу того, что на фоне существенного замедления ростовых процессов при стрессе содержание ионов Na^+ в растительных клетках побега значительно увеличивается.

Снижение биомассы побегов, наблюдаемое в нашем эксперименте, можно объяснить подавлением фотосинтеза и более высоким некрозом побегов в результате разрушения хлорофилла в клетках из-за увеличения накопления токсичных ионов именно в зеленых надземных органах

(Dua, 1997: 440), (Maliro, 2008: 53). Такое отрицательное влияние «эффекта токсичности» при длительном воздействии на нут может в дальнейшем, если не привести к гибели растения, то серьезно препятствовать развитию растений и достижению ими генеративной фазы.

Выводы

При исследовании морфологических данных проростков нута наблюдается достоверное различие экспериментальных вариантов в соотношении с контролем. По мере увеличения концентрации соли понижается рост и развитие проростков нута.

В анатомическом строении корня отмечается нарушение целостности клеток первичной паренхимы, а также уменьшение диаметра центрального цилиндра, который угнетает дальнейший рост растения.

В анатомическом строении стебля было замечено, что проводящие пучки уменьшились в количестве в экспериментальных вариантах, по сравнению с контролем. Что касается элементов проводящего пучка, можно отметить, что размер ксилемы уменьшился, а флоэма увеличилась, также под воздействием стресса флоэма начала разрушаться.

Литература

- 1 Абдуллаев К.К., Конопьянов К.Е., Абеутов С.К. Влияние способов посева на урожайность нута в чистых и смешанных агроценозах в условиях степной зоны Северо-востока Казахстана. // Казахстан: Кормопроизводство, 2008. – №5. – С. 7–8.
- 2 Балашов В.В., Балашов А.В., Патрин М.Т. Нут зерно здоровья. – Волгоград: Перемена, 2002, – 88 с.
- 3 Васин, А.В. Зернобобовые культуры в чистых и смешанных посевах на фураж // Земледелие. М., 2006. – № 4. – С. 28–29.
- 4 Винокуров В.А. Зернобобовые культуры в сельском хозяйстве Казахстана // Проблемы развития аграрного сектора в XXI веке. – Кокшетау, 2001. – С. 66–69.
- 5 Коломейченко В.В. Методика определения показателей фотосинтетической деятельности в посевах зернобобовых культур // Методика исследований с зернобобовыми культурами. Россия. Орёл, 1972. – С. 33–35.
- 6 Коренев Г.В., Подгорный П.И., Щербак С.Н. Растениеводство с основами селекции и семеноводства. М., 1990. – 575 с.
- 7 Удовенко Г. В. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство) – Ленинград, 1988. – 89 с.
- 8 Удовенко Г.В. Механизмы адаптации растений к стрессам // Физиология и биохимия культурных растений. – Ленинград, 1979, Т.11. – № 2. – С. 99–107.
- 9 Павленко В.Н., Балашов А.В., Хабаров А.М. Сроки и способы уборки нута // Плодородие. – М., 2009. – №6. – С. 40–42.
- 10 Федотов, В.А. Азотфиксирующая деятельность и продуктивность зернобобовых культур в Центральном Чернозёмье // Международный сельскохозяйственный журнал. 2004. – №5. – С. 50–52.
- 11 Ashagre H, Hamza IA, Fasika E, Temesgen F. Effect of salinity stress on germination and seedling vigour of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Acad. J. Agric. Res. 1(9). – (2013): 161-166.
- 12 Climate and disaster resilience / United Nations Development Programme. 2015. URL: <http://www.undp.org/content/undp/en/home/ourwork/climate-and-disaster-resilience/overview.html>
- 13 Dua R.P., Sharma S.K. Suitable genotypes of gram (*Cicer arietinum*) and mechanism of their tolerance to salinity. Indian J Agr Sci. 67(10). (1997): 440–443.

- 14 Flowers T. J., Gaur P. M., Gowda C.L.L., Krishnamurthy L., Samineni S., Siddique K.H.M., Turner N.C., Vadez V., Varshney R.K., Colmer T.D. Salt sensitivity in chickpea. *Plant Cell Environ.* 33 (4). (2010): 490–509.
- 15 Kafi M, Bagheri A, Nabati J, Zare Mehrjerdi M, Masomi A. Effect of salinity on some physiological variables of 11 chickpea genotypes under hydroponic conditions. *J Sci Technol Greenhouse Culture-Isfahan Univ Technol.* – 2011. No 1. – P. 55-70
- 16 Khalid, H., M. Abdul, N. Khalid, H. Khizar and N. Farrukh, Effect of different levels of salinity on growth and ion contents of black seeds (*Nigella sativa* L.). *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, 1(13). (2009): 135-138.
- 17 Khan H. A., Siddique K. H. M., Colmer T. D. Salt sensitivity in chickpea is determined by sodium toxicity // *Planta*. - 2016. doi:10.1007/s00425-016-2533-3
- 18 Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B. et al. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 4(8). (2010): 580–585.
- 19 Maliro M. F. A., McNeil D., Redden B., Kollmorgen J. F., Pittock C. Sampling strategies and screening chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm for salt tolerance. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55. (2008): 53–63.
- 20 Muhammad Z., Hussain F. Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of some medicinal plants. *Pak J Bot.* No 42. (2010): 889-897.
- 21 Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25(2). (2002): 239–250.
- 22 Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist.* 167. (2005): 645-663.
- 23 Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59. (2008): 651–681.
- 24 Pitman M.G. Transport across the root and shoot/root interactions. In: Staples RC, ed. *Salinity tolerance in plants: strategies for crop improvement.* NY: Wiley, (1984): 93-123.
- 25 Rameshwaran P., Qadir M., Ragab R., Arslan A., Majid A.G., Abdallah K. Tolerance of faba bean, chickpea and lentil to salinity: accessions' salinity response functions. *Irrig. and Drain.* 65 (2016): 49–60.
- 26 Shamsi K, Kobraee S, Haghparast R. Drought stress mitigation using supplemental irrigation in rainfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties in Kermanshah. *Iran. Afr J Biotech.* 9(27). (2010): 197-203.
- 27 Tsegazebe, H.H. and G. Berhane, The Effect of Salinity (NaCl) on germination of selected grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Landraces of Tigray Asian J. Agric. Sci.*, 4(2). (2012): 96-101.
- 28 Turner N.C., Colmer T.D., Quealy J., Pushpavalli R., Krishnamurthy L., Kaur J., Singh G., Siddique K.H.M., Vadez V. Salinity tolerance and ion accumulation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to salt stress. *Plant Soil.* 3365(1–2). (2013): 347–361.
- 29 Vadez V., Krishnamurthy L., Serraj R., Gaur P.M., Upadhyaya H.D., Hoisington D.A., Varshney R.K., Turner N.C., Siddique K.H.M. Large variation in salinity tolerance in chickpea is explained by differences in sensitivity at the reproductive stage. *Field Crop Res.* 104 (1-3). (2007): 123–129.
- 30 Yeo A.R., Flowers T.J. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soil. *Australian Journal of Plant Physiology.* 13. (1986): 161-173.

References

- 1 Abdullaev, K.K. (2008) Vlijanie sposobov poseva na urozhajnost' nuta v chistyyh i smeshannyh agrocenozah v usloviyah stepnoj zony Severo-vostoka Kazahstana [Influence of sowing methods on the yield of chick pea in pure and mixed agrocenoses in the conditions of the steppe zone of the Northeast of Kazakhstan]. *Kormoproizvodstvo*, no 5, pp. 7-8.
- 2 Ashagre H, Hamza IA, Fasika E, Temesgen F. “Effect of salinity stress on germination and seedling vigour of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars,” *Acad. J. Agric. Res.* 1(9) (2013): 161-166.
- 3 Balashov V.V., Balashov A.B., Patrin M.T. (2002) *Nut zerno zdorov'ya* [Chickpeas - health grain]. Volgograd: «Peremena», pp. 88 p.
- 4 Climate and disaster resilience / United Nations Development Programme. 2015. URL: <http://www.undp.org/content/undp/en/home/ourwork/climate-and-disaster-resilience/overview.html>
- 5 Dua R.P., Sharma S.K. “Suitable genotypes of gram (*Cicer arietinum*) and mechanism of their tolerance to salinity,” *Indian J Agric Sci.* 67(10) (1997): 440–443.
- 6 Fedotov. V.A., (2004) Azotofiksiruyushchaya deyatelnost i produktivnost zernobobovykh kultur v Tsentralnom Chernozemye [Nitrogen-fixing activity and productivity of leguminous crops in the Central Chernozem region]. *International Agricultural Journal*, no 5, pp. 50-52.
- 7 Flowers T. J., Gaur P. M., Gowda C.L.L., Krishnamurthy L., Samineni S., Siddique K.H.M., Turner N.C., Vadez V., Varshney R.K., Colmer T.D. Salt sensitivity in chickpea, *Plant Cell Environ.* 33 (4) (2010): 490–509.
- 8 Kafi M, Bagheri A, Nabati J, Zare Mehrjerdi M, Masomi A. “Effect of salinity on some physiological variables of chickpea genotypes under hydroponic conditions,” *J Sci Technol Greenhouse Culture-Isfahan Univ Technol.* 1 (2011): 55-70.
- 9 Khalid, H., M. Abdul, N. Khalid, H. Khizar and N. Farrukh, “Effect of different levels of salinity on growth and ion contents of black seeds (*Nigella sativa* L.),” *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, 1(13) (2009): 135-138.
- 10 Khan H. A., Siddique K. H. M., Colmer T. D. “Salt sensitivity in chickpea is determined by sodium toxicity,” *Planta* 244(3) (2016): 623-37, Accessed Apr 25, 2016. doi:10.1007/s00425-016-2533-3
- 11 Kolomeychenko. V.V. (1972) Metodika opredeleniya pokazateley fotosinteticheskoy deyatelnosti v posevakh zernobobovykh kultur [Method of determination of photosynthetic activity in crops of leguminous cultures]. *Methods of research with leguminous crops.* Orel, vol. 2, pp. 33-35.
- 12 Korenev, G.V., Podgornyiy P.I. and Scherbak S.N. (1990) *Rastenievodstvo s osnovami selektsii i semenovodstva*, [Plant growing with the basics of selection and seed farming]. Moscow, pp. 575.

- 13 Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B. et al., "Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars," *Aust. J. Crop Sci.* 4(8) (2010): 580–585.
- 14 Maliro M. F. A., McNeil D., Redden B., Kollmorgen J. F., Pittock C., "Sampling strategies and screening chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm for salt tolerance," *Genet. Resour. Crop Evol.* 55 (2008): 53–63.
- 15 Muhammad Z., Hussain F. "Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of some medicinal plants," *Pak J Bot* 42 (2010): 889-897.
- 16 Munns R., "Comparative physiology of salt and water stress," *Plant Cell Environ.* 25(2) (2002): 239–250.
- 17 Munns R. "Genes and salt tolerance: bringing them together," *New Phytologist*. 167 (2005): 645-663.
- 18 Munns R., Tester M. "Mechanisms of salinity tolerance," *Annu. Rev. Plant Biol.* 59 (2008): 651–681.
- 19 Pavlenko V.N., Balashov A.B., Khabarov A.M. (2009) Sroki i sposoby uborki nuta [The timing and methods of harvesting chickpeas]. *Plodorodie*. no 6, P. 40-42
- 20 Pitman M.G. "Transport across the root and shoot/root interactions. In: Staples RC, ed. *Salinity tolerance in plants: strategies for crop improvement*. NY: Wiley, (1984): 93-123.
- 21 Rameshwaran P., Qadir M., Ragab R., Arslan A., Majid A.G., Abdallah K., "Tolerance of faba bean, chickpea and lentil to salinity: accessions' salinity response functions" *Irrig. and Drain.* 65 (2016): 49–60.
- 22 Shamsi K, Kobraee S, Haghparast R. "Drought stress mitigation using supplemental irrigation in rainfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties in Kermanshah," *Iran. Afr J Biotech.* 9(27) (2010): 197-203.
- 23 Tsegazebe, H.H. and Berhane G. "The Effect of Salinity (NaCl) on Germination of Selected Grass pea (*Lathyrus sativus* L.)," *Landraces of Tigray Asian J. Agric. Sci.*, 4(2) (2012): 96-101.
- 24 Turner N.C., Colmer T.D., Quealy J., Pushpavalli R., Krishnamurthy L., Kaur J., Singh G., Siddique K.H.M., Vadez V. "Salinity tolerance and ion accumulation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to salt stress," *Plant Soil.* 3365(1–2) (2013): 347–361.
- 25 Udovenko G.V (1988) Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam [Diagnostics of plant resistance to stress factors]. Leningrad, pp. 89.
- 26 Udovenko G.V (1979) Mekhanizmy adaptatsii rasteniy k stressam [Mechanisms of plant adaptation to stresses]. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*, vol. 11, no 2, P. 99-107.
- 27 Vadez V., Krishnamurthy L., Serraj R., Gaur P.M., Upadhyaya H.D., Hoisington D.A., Varshney R.K., Turner N.C., Siddique K.H. "Large variation in salinity tolerance in chickpea is explained by differences in sensitivity at the reproductive stage," *Field Crop Res.* 104 (2007): 123–129.
- 28 Vasin, A.B. (2006) Zernobobovye kul'tury v chistykh i smeshannykh posevakh na furazh [Legumes in pure and mixed crops for fodder]. *Zemledelie*, no 4, pp. 28-29.
- 29 Vinokurov V.A. (2001) Zernobobovye kul'tury v sel'skom khozyaystve Kazakhstana [Legumes in agriculture of Kazakhstan]. *Development problems of the agricultural sector in the 21st century*, Kokshetau, pp. 66-69.
- 30 Yeo A.R., Flowers T.J. "Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils," *Australian Journal of Plant Physiology* 13 (1986): 161-173.

Картбаева Г.Т.¹, Абуkenова В.С.²

¹кандидат биологических наук, доцент Карагандинского государственного университета имени академика Е.А. Букетова, Казахстан, г. Караганда, e-mail: gulnaz1967@mail.ru

²кандидат биологических наук, доцент Карагандинского государственного университета имени академика Е.А. Букетова, Казахстан, г. Караганда, e-mail: abu-veronika@yandex.kz

ЭКОМОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ CHLAMYDOTIS MASQUEENII НА ЗАПОВЕДНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ В 2017 Г.

Дрофа-красотка *Chlamydotis macqueenii* гнездится и встречается на пролете в южной половине Казахстана. Ее местообитание – глинистые, каменистые и солончаковые пустыни и полупустыни. В Казахстане сейчас обитает не менее 60 тысяч особей. Занесена в Красную книгу Республики Казахстан, а также в Красные книги Узбекистана, Туркменистана и России. Создание государственных заповедных зон республиканского значения послужило стимулом к проведению в Казахстане ежегодного мониторинга численности этой птицы с использованием автотранспорта высокой проходимости и современных средств наблюдения.

Цель мониторинга – получение данных для рационального использования популяции, поддержания ее численности. В 2017 году учет дрофы-красотки на территории Андасайского государственного природного заказника и Жусандалинской заповедной зоны носил целевой характер и предусматривал обследование равнинных территорий с боялычом, биургунном, кейреуком и караганой. Выявлялись групповые поселения и одиночные особи. Проводился автомобильный учет с применением метода экстраполяции на территорию, сделаны расчеты вероятной численности дрофы-красотки, с учетом средних значений возможного прироста после завершения гнездования. Распределение дрофы-красотки территории Андасайского ГПЗ показывает влияние фактора беспокойства из-за косвенного воздействия человека. Северные территории заказника (район рудников) посещаются птицами исключительно в период перелетов. Численность дрофы-красотки возросла на 8-9% в течение последних шести лет. Мероприятия по сохранению джека в этих районах должны включать ландшафтно-экологическое зонирование территории, патрулирование, повышение осведомленности населения и развитие программы защиты гнезд.

Ключевые слова: Дрофа-красотка, Казахстан, заповедные зоны, мониторинг.

Kartbayeva G.T.¹, Abukenova V.C.²

¹candidate of Biological Sciences, associate professor of the Karaganda State University named after the academician E.A. Buketov, Kazakhstan, Karaganda, e-mail: gulnaz1967@mail.ru

²candidate of Biological Sciences, associate professor of Karaganda State University named after the academician E.A. Buketov, Kazakhstan, Karaganda, e-mail: abu-veronika@yandex.kz

Ecomonitoring researches of *Chlamydotis Macqueenii* in reserved zone in 2017

Houbara bustard (*Chlamydotis macqueenii*) breeds and occurs on migration in southern part of Kazakhstan. Habitats of these birds are clay, stony, saline deserts and semi-deserts. According to estimates, about 60,000 individuals live in Kazakhstan now. This species included in the Red List of the Republic of Kazakhstan and in the Red Lists of Uzbekistan, Turkmenistan and Russia also. The establishment of the national state protected zones stimulated the annual monitoring of these birds in Kazakhstan with use of vehicles and modern surveillance equipment. The purpose of the monitoring is rational uses of population, maintaining of number. The registration of houbara bustards on the territory of Andasai State Game Reserve and Zhusandalinsky reserved zone in 2017 included the survey of flat areas with boyaluch, biyurgun, keireuk and caragana. Group settlements and single individuals were identified. There were conducted survey using the method of extrapolation of the territory and estimates of the

population of houbara bustards by the average values of possible growth after the completion of nesting. Distribution of bustard shows the influence of the disturbance factor due to indirect human impact. The northern territories of the reserve zone are visited by birds only during the flights. The population of bustard increased on 8-9% during the last six years. Preserve measures of *Chlamydotis macqueenii* should include landscape-ecological zoning, patrolling, awareness raising of the population and development of protection program of nests.

Key words: Houbara bustard, Kazakhstan, Zhusandalinsky reserved zone, Andasai Game Reserve, monitoring.

Картбаева Г.Т.¹, Абуkenова В.С.²

¹биология ғылымдарының кандидаты, академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университетінің доценті, Қазақстан, Қарағанды қ., e-mail: gulnaz1967@mail.ru

²биология ғылымдарының кандидаты, академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университетінің доценті, Қазақстан, Қарағанды қ., e-mail: abu-veronika@yandex.kz

Қорықтық аймақтардағы 2017 ж. *Chlamydotis macqueenii* экомониторингтік зерттеулер

Дуадақ Оңтүстік Қазақстанда ұя салады және ұшып келеді. Оның негізгі мекені батпақты, тасты, сорды шөлді және шөлейт жерлер. Қазіргі уақытта дуадақтың саны 60 мың особьқа жеткен. Ол Қазақстан, Өзбекстан, Түрікменстан, Ресей Қызыл кітаптарына енген. Мемлекеттік қорықтық зонаның құрылуы, олардың жыл сайынғы есептеу, бақылау жұмыстарын жүргізуге, заманауи құрылғыларды қолданып зерттеуге жақсы мүмкіндік берді.

Мақалада дуадақтың Андасай, Жусандала территорияларында қорғалатын қорықтық, қорықша зоналарындағы мониторингі беріледі. Топтық және жеке особьтардың бұйырғын мен тобылғылы, кейреуікті, қарағанды жазықтықтарда мекендеуі анықталған. Сонымен қатар дуадақтың сандық көрсеткіштерінің жуықтап алғандағы есебі, ұя салып болғаннан кейінгі орташа мәннен өскендігі баяндалған. Андасай қорықшасында дуадақтың таралуына адамның қосалқы әрекеттерінің нәтижесінде болатын факторлар әсер ететіндігі дәлелденген. Соңғы бес-алты жыл мерзімінде дуадақтың сандық көрсеткіштері 8-9% жоғарылаған.

Дуадақты сақтап қалу шаралары барысында территорияларды ландшафты-экологиялық зоналау және күзетті нығайту, халықты ұяларды қорғау бағдарламасымен таныстыру жұмыстарын ұлғайту болып саналады.

Түйін сөздер: дуадақ, Қазақстан, қорықтық зоналар, мониторинг.

Дрофа-красотка, или джек, *Chlamydotis undulata* родом из засушливых местообитаний Северной Африки, Аравии и Центральной Азии, не находится под угрозой исчезновения (Collar 1983: 12; Collar 1994), но считается уязвимым видом МСОП (Groombridge 1993). Ранее систематики выделяли три подвида дрофы-красотки: *C. u. macqueenii* – в пустынях России, Азии и на Ближнем Востоке; *C. u. undulata* – в Северной Африке и *C. u. fuertaventurae* – на восточных Канарских островах (Collar 1983a: 1). В настоящее время *C. u. macqueenii* рассматривается как самостоятельный вид *Chlamydotis macqueenii* (Combreau 2011:107).

Многие исследователи считают, что численность джека сокращается на большей части ареала (Алексеев 1980: 1263; Surahio 1985: 55; Seddon 1996: 139; Губин 2007: 395). В странах Центральной Азии дрофа-красотка занесена в национальные Красные книги. Для возобновления природных популяций вида разработаны разнообразные технологии разведения, широко используемые в Саудовской Аравии, Абу-Даби, Марокко и других странах. Главная цель таких

работ – последующая реинтродукция птиц в дикую природу. Разведение в неволе является достаточно успешным (Schulz 1991; Combreau 1997: 149; Nemon 2000: 50), но не решает всех проблем сохранения вида в естественных условиях обитания (Child 1990; Osborne 1997: 51; Goriup 1997: 383; Березовиков 2012: 807; Коваленко 2012: 250; Губин 2016: 515).

В недавнем прошлом ареал *Chlamydotis macqueenii* занимал значительную часть полупустынь и пустынь Казахстана и Средней Азии. В северной части ареала обитания джек является перелетным видом, совершающим ежегодные миграции: осенью с мест гнездования в Казахстане, России, Китая и Монголии на зимовки в Пакистан, Ирак и Саудовскую Аравию, а весной обратно. Считается, что 80% среднеазиатской популяции сохранилось лишь в Казахстане, где дрофа-красотка занесена в Красную книгу, статус – II категория, сокращающийся вид. Территория Казахстана является крайне важным регионом для сохранения и благополучного существования мировой популяции вида.

Дрофа-красотка найдена гнездящейся в казахстанских полупустынях и пустынях, к северу приблизительно до 51° с. ш. В северо-западной части ареала не заходит далее устья Урала и верховьев Илека. На северо-востоке гнездится в юго-восточном Алтае, в Зайсанской котловине, в северных предгорьях Тарбагатай и в песках Прибалхашья. Распределена крайне неравномерно, предпочитая равнины и кромки закрепленных песчаных массивов, при этом избегая обводненных участков, горных массивов, пойменных лесов и зон возделывания агрокультур. В наиболее типичных местах обитания эти птицы обычно поселяются скоплениями от 5-6 до 30 особей, хотя нередко случаи одиночного поселения.

Сведения о численности дрофы-красотки в настоящее время разноречивы. Для большинства районов Казахстана джек считался крайне малочисленным. Так, в Восточных Кызылкумах в районе пос. Баиркум на кромке пустыни вдоль останцового поднятия Карактау, обитает по расчетным данным 144-450 джеков (Губин 1990: 113). В Бетпак-Дале (общая площадь пустыни 11,5 мл. га), обитает около 1400 джеков, в пустынях Южного Прибалхашья – около 120 птиц, в Кызыл-Ординской области – около 150, а всего в Южном Казахстане обитает порядка 1,7-2 тыс. особей (Губин 1986: 93; Губин 1992: 98). В целом, по данным 1982-1989 гг., численность по Казахстану составляет порядка 30 тыс. особей.

Главные причины сокращения численности джека – интенсивное хозяйственное использование угодий, являющихся местами ее гнездования, а также усиление фактора беспокойства. Не смотря на то, что в связи с ликвидацией совхозов аридные земли были практически выведены из сельскохозяйственного оборота, сократился выпас скота, оказались разоренными животноводческие зимовки, воздействие человека еще достаточно ощутимо. В ущельях гор и на равнинах часты пожары, после которых исчезают остатки древесно-кустарниковых зарослей. Территория регулярно посещается браконьерами. Интенсивно развиваются горнодобывающие предприятия, деятельность которых охватывает огромные площади, занятые рудниками, отвалами, магистралями. Кроме того, повысился интерес к джеку как объекту проведения соколиной охоты, что очень традиционно для стран Переднего Востока.

Все это определило необходимость получения достоверных сведений о численности и распределении популяций дрофы-красотки на

территориях Южно-Казахстанской, Арысской и Карактауской, Жусандалинской и Кендерли-Кааясанской государственных заповедных зон республиканского значения и Андасайского государственного природного заказника, призванных сохранить условия стабильного существования вида.

Данное исследование являлось частью мониторинговых работ 2017 года по учету численности дрофы-красотки, проведенных авторами совместно с ТОО «СпектрПроект», по договору с РГКП ПО «Охотзоопром».

Материалы и методы исследования

Учет численности и мониторинговые исследования дрофы-красотки проводились на территории Жусандалинской государственной заповедной зоны республиканского значения и граничащего с ней Андасайского заказника в марте-августе-октябре 2017 года. Порядок проведения учетных работ соответствовал современным стандартным методикам (Губин 1999: 9; Губин 2003:178; Скляренко 2005: 56).

Жизненный цикл популяции дрофы-красотки на территории Казахстана отслеживается с конца февраля-начала марта по октябрь – ноябрь в зависимости от климатических условий. Осенний отлет дрофы-красотки с северных территорий начинается с конца октября – начала ноября и продолжается до конца ноября.

Весенний учет численности дрофы-красотки на территории Жусандалинской заповедной зоны и Андасайского заказника проводился в период с 05 по 24 мая 2017 г. Проведение мониторинга в летний и осенний периоды на территориях заповедной зоны и заказника осуществлялось на маршрутах и точках наблюдения. При выполнении мониторинга изучались условия место обитания и факторы, влияющие на состояние популяции дрофы-красотки.

Учет дрофы-красотки носил целевой характер и предусматривал тщательное обследование равнинных территорий в пределах полупустынной и пустынной зон с целью выявления разрозненных групповых и одиночных поселений вида. Применялся автомаршрутный метод с автомобиля высокой проходимости. Ширина полосы учета по максимальной и средней дальности обнаружения дрофы-красотки составила 1 км (по 500 м в каждую сторону). Маршруты закладывались случайным образом так, чтобы охватить различные биотопы и сделать возможной экстраполяцию на эти участки в целом. Реги-

страцию встреч проводили во время максимальной активности джека: утром с восхода солнца и до 10-11 ч., вечером – с 16-17 ч. и до захода солнца, и только в пасмурные дни – практически все светлое время суток. Координаты места встреч особей, следов деятельности, гнезд фиксировались с помощью GPS. Маршруты движения автоматический регистрировались с помощью навигатора.

На основе учетных данных, в соответствии с утвержденной методикой, проводился экстраполяционный расчет численности вида на данных территориях.

Конечные расчеты численности дрофы-красотки выглядят следующим образом:

$$n = ((b * 2) + t) * 175 / 100;$$

$$s = L * W;$$

$$N = n * S / s,$$

где:

N – общая итоговая расчетная численность дрофы-красотки;

n – расчетная численность дрофы-красотки на площади территории, охваченной учетами;

b – число визуально встреченных птиц;

t – количество встреченных свежих следов пребывания дрофы-красотки;

s – площадь территории, охваченной учетами;

S – площадь территорий, пригодных для обитания дрофы-красотки;

L – длина маршрута учета,

W – ширина учетной полосы

Основываясь на результатах, полученных в гнездовой период с помощью метода экстраполяции на территорию, сделаны расчеты вероятной численности дрофы-красотки, учитывающие средние значения возможного прироста после завершения гнездования.

Результаты и их обсуждение

Жусандалинская государственная заповедная зона республиканского значения расположена в Алматинской и Жамбылской областях. Занимает территорию от западной кромки пустыни Таукумы на востоке, Куртинского водохранилища на юге, до равнин Сексеулдалы и на западе по кромке Бетпакдалы граничит с Андасайским заказником, отрогов гор Хантау и Майжарылган на севере. Климат континентальный. Зима холодная, лето жаркое, засушливое. Средние температуры января -13, -15°C, июля 24°C. Среднегодовое

количество атмосферных осадков 100-150 мм. Территория заповедной зоны представлена в основном равнинами с боялычево-попынными ассоциациями. Часть территории занята зарослями саксаула, небольшими холмами с выходами породы и песками. Общая площадь – 2757500 гектар. Установленные режимы: заповедный режим (80 660 га), заказной режим (353 236 га), регулируемый режим (2 323 604 га).

Общая площадь биотопов, пригодных для обитания джека, составляет в ее пределах 580 000 га. По участкам встречаемости можно выделить три основных района обитания дрофы-красотки, согласно работам предыдущих исследователей (Скляренко 2008: 58). Первый участок расположен в «средней» части зоны, включает оптимальные местообитания джека площадью около 800 кв. км, занимает пространство между трассой Алматы-Караганда (подгорными всхолмленными равнинами) и массивами закрепленных песков пустыни Таукумы.

Второй участок представлен подгорными попынно-тасбиюргуновыми и попынно-злаковыми равнинами к северу и востоку от гор Хантау, к востоку от гор Анархай и Жельтау, площадью 3000 кв. км. Встречаются участки боялыча и саксаульников.

Третий участок – равнина Сексеулдала, с попынниками и тасбиюргунниками.

На территории Жусандалинской заповедной зоны мониторинговые маршруты проходили по 11 различным биотопам в местах обитания дрофы-красотки.

Весенние наблюдения показали, что среди выделенных местообитаний дрофа-красотка предпочитает попынно-биюргуновыи равнины (31% общей численности) и биюргуновыи равнины с островками попыны (40% общей численности). Выше приведенные исследователи отмечали предпочтение джеком предпесковой части Жусандалы с тас-биюргуном и куртинами попыны. Общее количество встреч во второй декаде мая составляло 47 особей на маршрутах. Встречаемость самцов была выше на 15 %.

На маршрутах 16-19 мая протяженностью 320 км, проходящих по всей территории заповедной зоны, отмечены следующие встречи: на холмистой равнине с боялычем – 1 особь, на граница песка и равнины с попынью, кейреуком и терескеном – 2; на попынно-биюргуновой равнине – 12; у кромки песка с кейреуком, попынью и терескеном – 1; на попынной равнине с редкими кустами тамариска и саксаула – 3; на сухом русле с караганой – 1; на равнине с биюргуном, эбеле-

ком и островками полыни – 5; на биюргуновой равнине с островками полыни – 18; на злаково-эбелековой равнине – 2; на кейреуково-злаковой равнине – 2. Всего найдено 24 самца, 14 самок, 9 неопределенных до пола птиц, 11 пунктов с оброненными перьями и пометом.

Как отмечают некоторые авторы, подобное соотношение полов у дрофы-красотки бывает при наблюдениях в раннее послегнездовое время, когда многие самки имеют еще нелетных птенцов, что снижает встречаемость и, соответственно, расчетную численность

вида (Скляренко 2008: 59). В первой декаде августа зарегистрирована 41 особь, также предпочитаемой осталась полынно-биюргуновая равнина (37,2%). На полынной равнине с редкими кустами тамариска и саксаула обнаружено 20,9% птиц (рисунок 1).

В остальных местообитаниях (холмистая часть равнины с боялычем по вершинам; равнина с биюргуном, эбелеком и островками полыни; кейреуково-злаковая равнина) дрофа-красотка встречалась достаточно равномерно, составляя по 11,6 %.



Рисунок 1 – Летние мониторинговые маршруты на территории Жусандалинской ГЗРЗ

В период встреч 05-12 августа на маршрутах зарегистрированы: на холмистой равнине с боялычем – 5 особей, на полынно-биюргуновой равнине – 16 птиц; на полынной равнине с редкими кустами тамариска и саксаула – 9; на сухом русле с караганой и на злаково-эбелековой равнине были единичные встречи; на равнине с биюргуном, эбелеком и островками полыни – 6 птиц; на кейреуково-злаковой равнине – 5. Всего найдено 12 самцов, 19 самок, 10 неопределенных до пола птиц. Самцы и самки встречаются более равномерно, чем на майских маршрутах.

В последней декаде октября осеннее распределение дрофы-красотки определено по встречаемости 53 особей на учетных маршрутах. Полынно-биюргуновую равнину выбирало 28,6% зарегистрированных птиц, полынную равнину с редкими кустами тамариска и саксаула – 38,8 %.

На маршрутах 20-26 октября были обнаружены: на холмистой равнине с боялычем и границе

песка и равнины с полынью – по 2 особи; на полынно-биюргуновой равнине – 14 птиц; у кромки песка с кейреуком, полынью и терескеном – 1; на полынной равнине с редкими кустами тамариска и саксаула – 19; на сухом русле с караганой, равнинах с биюргуном, эбелеком и кейреуково-злаковой встречаемость птиц была единичной; на биюргуновой равнине с островками полыни – 3; на злаково-эбелековой равнине – 5. Всего найдено 13 самцов, 18 самок, 22 неопределенных до пола птиц.

Осенью встречаемость самок оказалась выше на 20 %, доля неопределенных особей возросла. Возможно, результаты регистрации связаны с особенностями биологии вида. Так, особи обоих полов дрофы-красотки внешне считаются сходными, без сезонных вариаций; молодые птицы похожи на самок и отличаются от последних только на близком расстоянии, а неполовозрелые и холостующие особи постоянно держатся группами.

Андасайский государственный природный заказник расположен в Жамбылской области, Мойнкумском районе и граничит с Жусандалинской заповедной зоной. Общая площадь 100000 гектар. Климат континентальный. Зима холодная, лето жаркое, засушливое. Средние температуры января -13 , -15°C , июля 24°C . Среднегодовое количество атмосферных осадков 100-150 мм. Заказник создан для сохранения и увеличения численности диких зверей и птиц. В растительном покрове заказника преобладают ковыль, типчак, биюргун, редкие эфемеры, саксаул черный, заросли кустарниковых ив. Установленный режим – заказной. По югу граница проходит вдоль долины реки Чу, занимает долину Сарыой, край пустыни Бетпақдала с боялычниками. На территории расположены горные массивы Жамбыл и Байгора, в северной своей части мелкосопочник с боялычевыми долинами. В его территорию вклиниваются рудники и рудничный поселок Акбакай.

На территории Андасайского заказника учетные и мониторинговые маршруты проходили по различным биотопам в местах обитания дрофы-красотки. В ходе следования по маршруту были отмечены следующие биотопы: боялычевая равнина, полынь с островками боялыча по увалу, равнина с полынью, кейреуком и

караганой вдоль саев, такыры и солонцы среди полыни и саксаульников, такыры внутри боялычевых полей, равнина с эбелеком и полями полыни, равнина в сочетании полыни и боялыча, полынная равнина иногда с редким саксаулом, равнина с биюргуном и полями боялыча.

В ходе обследования во второй декаде мая было встречено 19 особей дрофы-красотки. Среди выделенных в районе исследования 9 местообитаний птицы избирали равнины с биюргуном и полями боялыча (31,6%), совсем не встречались на такырах.

12-15 мая проведен маршрутный учет на двух автомобилях. Общая длина маршрута на территории Андасайского заказника составила 520 км, с шириной учетной полосы 1000 м (500 м по обе стороны). В местообитаниях с полынью и островками боялыча по увалу были замечены единичные особи; на боялычевой равнине отмечено 3 особи, на равнине с эбелеком и полями полыни – 2; на равнине с полынью, кейреуком и караганой вдоль саев – 2; на равнине с полынью и боялычом – 3; на полынной равнине с редким саксаулом – 2; на равнине с биюргуном и полями боялыча – 6 птиц. Семь раз найдены метки пребывания – следы лиськи и свежий помет. Всего на маршруте зарегистрировано 7 самок, 11 самцов и 1 особь неопределенных до пола.



Рисунок 2 – Летние мониторинговые маршруты на территории Андасайского ГПЗ

В первой декаде августа регистрация особей дрофы-красотки в биотопах Андасайского ГПЗ показала численность 25 особей на маршрутах, более 50% птиц было найдено на полевой равнине с редким саксаулом (Рисунок 2). На маршруте 30 июля – 4 августа за пять дней в местообитаниях с полевой и островками боялыча по увалу зарегистрирована – 1 особь; на боялычевой равнине – 2 особи, на равнине с полевой, кейреуком и караганой вдоль саев – 3; на равнине с полевой и боялычом – 2; на полевой равнине с редким саксаулом – 13; на равнине с биюргуном и полями боялыча – 4 птицы. Всего учтено 12 самок, 7 самцов и 6 птиц неопределенных до пола.

Маршрутные учеты в последней декаде октября показали большую численность дрофы-красотки (36 особей). Равнину с полевой, кейреуком и караганой вдоль саев посещает 52,8 % птиц. Такыры и солонцы среди полей и саксаульников, а также внутри боялычевых полей не привлекают дрофу-красотку в это время года ни одной особи здесь не зарегистрировано. На маршруте с 28 октября по 2 ноября в местообитаниях с полевой и островками боялыча по увалу встретили 1 особь; на боялычевой равнине было отмечено 4 особи, на равнине с эбелеком и полями полей – 5; на равнине с полевой, кейреуком и караганой вдоль саев – 19; на равнине в сочетании полей и боялыча – 4; на полейной равнине с редким саксаулом – 2. Всего определено 15 самок 9 самцов; учтено 12 особей, неопределенных до пола.

Отмеченное нами преимущественное распределение птиц на равнине с биюргуном и полями боялыча, редким саксаулом и полевой, кейреуком и караганой является достаточно характерным для дрофы-красотки по наличию кормовых ресурсов и укрытий (Губин 2009:104).

Согласно имеющимся данным, общее распределение дрофы-красотки по биотопам обусловлено преимущественным питанием как растительной, так и смешанной пищей (Міан 1983: 112; Мекленбурцев 1990: 9; Лаунау 1997: 116; Губин 2009:103). Весною птицы кормятся молодыми побегами полей и луковичами чеснока и лука. Пищей дрофе-красотке служат побеги и листья ряда видов пустынных растений, беспозвоночные – ракообразные (мокрицы), паукообразные и насекомые (в основном жуки и прямокрылые), а также ящерицы и мелкие змеи. Питание джека меняется в зависимости сезонов года и условий местообитания. Прослеживается следующая тенденция – выгорание раститель-

ности летом сопровождается переходом на животную пищу, а осенью наблюдается смешанное питание. Высокая численность на участках и концентрация птиц в конце сезона размножения наблюдается в местах выплода саранчи и кузнечиков.

В целом, мониторинговые наблюдения подтверждают, что численность *Chlamydotis macqueenii* зависит как от естественных, так и от антропогенных факторов. Из естественных факторов в первую очередь оказывают влияние осадки, особенно ливневые дожди. Так как дрофа-красотка гнездится на земле, кладки птиц, отложенные в понижениях, оказываются под слоем воды и погибают в период обильных дождей.

Основными врагами для кладки и маленьких птенцов являются крупные хищные птицы, лисица, корсак, дикие кошки и пустынный ворон (Губин 1990:120; Губин 2009: 118). На территории Андасайского заказника и Жусандалинской заповедной зоны зарегистрированы следующие естественные враги дрофы-красотки: лисица – *Vulpes vulpes*, корсак – *V. corsak*, шакал – *Canis aureus*, волк – *C. lupus*, степная кошка – *Felis libyca*, могильник – *Aquila heliaca*, степной орел – *A. nipalensis*, беркут – *A. chrysaetos*, курганник – *Buteo rufinus*, балобан – *Falco cherrug*, филин – *Bubo bubo*, пустынный ворон *Corvus ruficollis*, манул – *Felis manul*, степной хорь – *Mustela eversmanni*, перевязка – *Vormela peregusna*.

Поданным Б.М. Губина (Губин 2016: 516) в Жусандалинской заповедной зоне в 1996-2003 годах при плотности населения джека 0,18-0,60 ос./км² колебания калькуляционной численности составили 526-1900 особей в зависимости от сезона проведения полевых работ.

В период 2004-2008 гг. общая расчетная численность *Chlamydotis macqueenii* была максимальной в 2005 году (1000 особей), а минимальной – в 2008 году (450-500 особей) (Склярченко 2016: 138). По всей площади Жусандалинской заповедной зоны средняя численность джека может достигать 2165 особей (Губин 2009: 103). Наряду с этим имеются сообщения о том, что джек здесь распространен повсеместно, но везде редок (Борисенко 2003:609).

В Андасайском заказнике в течение 3 лет (2006-2008) фиксировалась невысокая, но довольно устойчивая численность дрофы-красотки – около 300 особей (Губин 2016: 516).

На основе данных гнездового периода 2017 года, с помощью метода экстраполяции на территорию, нами определена вероятная численность

дрофы-красотки с учетом средних значений возможного приплода: Жусандалинская заповедная зона – 1493 особи, Андасайский государственный природный заказник – 531 особь. Это соответствует показателю общего 9% роста численности

вида в период 2011-2017 гг. на территории государственных заповедных зон республиканского значения (Арысской и Карактауской, Южно-Казахстанской, Кендерли-Каясанской) (Рисунок 3).

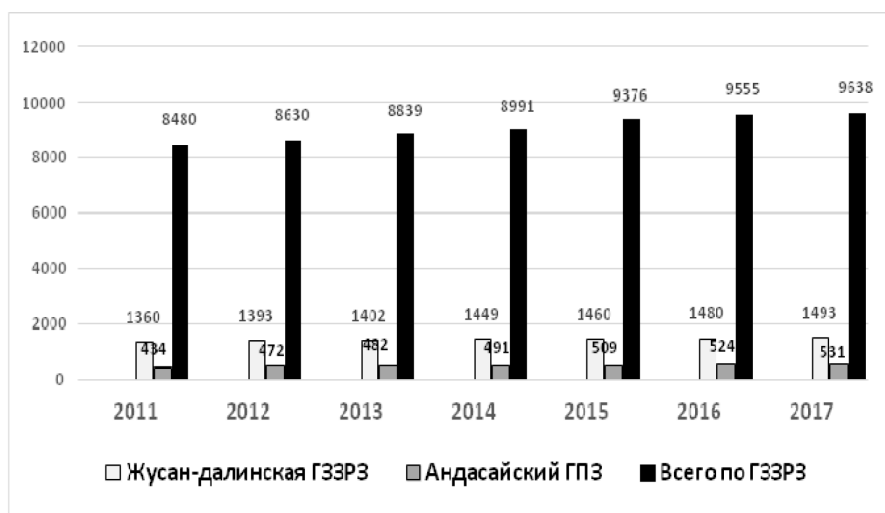


Рисунок 3 – Динамика численности дрофы-красотки на территориях государственных заповедных зон и Андасайского государственного природного заказника в период 2011 – 2017 гг.

В ходе проведения учетных работы обнаружено, что одним из наиболее значимых негативных факторов, влияющих на условия обитания джека во всех исследованных местообитаниях, является фактор беспокойства, связанный с влиянием человеческой деятельности. Так для Андасайского заказника, расположенного в Мойнкумском районе Жамбылской области, фактором воздействия являются вклинивающиеся в его территорию горнодобывающие предприятия месторождений Акбакайского кластера АО «АК Алтыналмас». В ходе весенних и летних мониторинговых исследований определено, что все точки регистрации вида находятся гораздо южнее промышленного района. Северные территории заказника (район рудников), посещаются птицами исключительно в период перелетов. Налицо ситуация, когда на территории с благоприятными для дрофы-красотки условиями обитания отсутствуют птицы из-за косвенного воздействия человека.

Заключение

Проводимые на территориях заповедных зон и заказника долгосрочные наблюдения позволяют получать данные о пространственно-экологической структуре популяции краснокнижного

вида *Chlamydotis macqueenii*, демографическом составе населения джека, численности, питании, сроках миграций, связи репродуктивного процесса с интенсивностью землепользования

Регистрация численности на территории Казахстана тесно связана с особенностями жизненного цикла популяции дрофы-красотки, который занимает период с конца февраля-начала марта по октябрь – ноябрь в зависимости от климатических условий. В то же время точность учетных данных зависит от количества наблюдений, их продолжительности и сроков выполнения. Некоторые авторы считают, что наиболее целесообразным представляется проведение двойного учета: первого – в середине-конце апреля, второго – в конце июня – начале июля (Скляренко 2009: 139). Учеты мая – середины июня считаются в этом случае наименее продуктивными, так как самцы мало перемещаются, а самки насиживают или водят еще плохо летающих птенцов. Однако нам представляется, что сроки выполнения сезонных учетов все же являются скользящими и сильно связаны со специфическими погодными условиями года. В этом смысле особую ценность приобретает долгосрочный сбор фенологических данных для вида.

Мониторинг 2017 года показал, что для Андасайского ГПЗ и Жусандалинской ГЗРЗ характерны более поздние сроки регистрации первого пролета (23-28 марта), по сравнению с Арысской, Каратауской и Южно-Казахстанской ГЗРЗ (12 марта). То же наблюдается при массовом перелете птиц. Начало и конец осеннего отлета здесь происходят, как правило, раньше, по сравнению с другими зонами (12.10-09.10 и 08.11-03.11 соответственно).

В целом, состояние условий на местах гнездования и кормовой базы дрофы-красотки на исследованных территориях в 2017 году оказалось благоприятным. Популяция дрофы-красотки на территории Андасайско-

го государственного природного заказника и Жусандалинской заповедной зоны была стабильно растущей (1-2%). Принимая во внимание недочеты применяемых методик определения численности, на основе многолетних данных можно прогнозировать определенную устойчивость существования местной популяции джека, положительный баланс которой за последние шесть лет составил примерно на 8-9%. Для развития стратегии сохранения вида очевидна необходимость сезонных мониторинговых наблюдений, охрана важнейших территорий обитания, устойчивое землепользование и уменьшение непосредственного вмешательства человека в природу.

Литература

- 1 Алексеев А.Ф. Дрофа-красотка (*Chlamydotis undulata macqueenii*) в Северо-Западных Кызылкумах / А.Ф. Алексеев // Зоол. журн. – 1980. – Т. 59. – № 8. – С. 1263-1266.
- 2 Березовиков Н.Н., Анисимов Е.А. К распространению джека *Chlamydotis undulata* в западной части Алакольской котловины / Н.Н. Березовиков, Е.А. Анисимов // Русский орнитологический журнал. – 2012. – Т. 21. – С. 807.
- 3 Борисенко В.А. О численности красавки *Anthropoides virgo*, стрепета *Otis tetrix*, дрофы *Otis tarda* и джека *Chlamydotis undulata* в некоторых районах Казахстана / В.А. Борисенко // Русский орнитологический журнал. – 2003. Экспресс-выпуск. – №224. – С. 609-611.
- 4 Губин Б.М. Численность, распределение и состояние охраны джека на юге Казахстана / Б.М. Губин // Дрофы и пути их сохранения. – М., 1986. – С. 92-97.
- 5 Губин Б.М., Скляренко С.Л. Джек - *Chlamydotis undulata* Jacquin, 1784 / Б.М. Губин, С.Л. Скляренко // Редкие животные пустынь. – Алма-Ата, 1990. – С.113-135.
- 6 Губин Б.М. Джек / Б.М. Губин // Методы учета основных охотничье-промысловых и редких животных Казахстана. – Алматы, 2003. – С. 174-190.
- 7 Губин Б.М. Джек - *Chlamydotis undulata* (Jacquin, 1784) / Б.М. Губин // Птицы Средней Азии. – Алматы, 2007. т.1. – С. 395-403.
- 8 Губин Б.М. Распространение и численность дрофы-красотки в Казахстане / Б.М. Губин // Русский орнитологический журнал. – 2016. – Т. 25. – С. 515-517.
- 9 Коваленко А.В., Мелдебеков А.М., Байжанов М.Х., Скляренко С.Л. Динамика численности дрофы-красотки в условиях государственных заповедных зон и Андасайского госзаказника / А.В. Коваленко., А.М. Мелдебеков, М.Х. Байжанов, С.Л. Скляренко // Материалы междунауч. Конф. «Зоологические исследования за 20 лет независимости Республики Казахстан». – Алматы. 2012. – С. 250-254.
- 10 Мекленбурцев Р.Н. Семейство Дрофиные – *Otididae* / Р.Н. Мекленбурцев // Птицы Узбекистана. – Ташкент, 1990. Т. 2. – С. 7-16.
- 11 Скляренко С.Л. Учет джека в Жусандалинской заповедной зоне / С.Л. Скляренко // Казахстанский орнитологический бюллетень 2004. – 2005. – С. 56-58.
- 12 Скляренко С.Л., Шмидт И.Н. Орнитологические наблюдения в Жусандалинской заповедной зоне и Андасайском заказнике в 2007 г. / С.Л. Скляренко, И.Н. Шмидт // Казахстанский орнитологический бюллетень 2007. – 2008. – С. 58-61.
- 13 Скляренко С.Л. О численности джека (*Chlamydotis macqueenii*) в Жусандалинской заповедной зоне и Андасайском заказнике (Казахстан) в 2004-2008 гг. / С.Л. Скляренко // Дрофиные птицы Палеарктики: разведение и охрана. Выпуск 2. Межвед. сб. науч. и науч.-метод. тр. / Московский зоопарк. – 2009. – С. 129-140
- 14 Child, G., Grainger, J. "A system plan for protected areas for wildlife conservation and sustainable development in Saudi Arabia" National Commission for Wildlife Conservation and Development. 256 (1990): 127-34.
- 15 Collar, N., Goriup, P. "The ICBP Fuerteventura Houbara Expedition: introduction" Bustard Studies 1 (1983a): 1-8.
- 16 Collar, N. "A history of the Houbara in the Canaries." Bustard Studies 1(1983): 9-30.
- 17 Collar, N., Crosby, M., Stattersfield, A. "Birds to watch 2 the world list of threatened birds" Birdlife Conservation Series 4 (1994): 1-407.
- 18 Combreau, O., Smith, T. "Summer habitat selection by houbara bustards introduced in central Saudi Arabia" Journal of Arid Environ. 36(1997): 149-160.
- 19 Combreau, O., Riou, S., Judas, J., Lawrence, M. "Population structure, migratory connectivity and inference on gene exchange mechanisms in the Asian Houbara Bustard *Chlamydotis macqueenii*: a summary of recent findings Biodiversity Conservation in the Arabian Peninsula". Zoology in the Middle East 3(2011): 107-110.

- 20 Goriup, P. "The world status of the Houbara bustard *Chlamydotis undulata*" *Bird Conservation International* 7(1997): 373-397.
- 21 Groombridge, B. 1994 IUCN Red List of threatened animals. Gland, Switzerland (1993): IUCNR.
- 22 Gubin, B. "The numbers, distribution and state of protection of the houbara bustard in the south of Kazakhstan" *Bustard studies* 5 (1992): 98-103.
- 23 Gubin, B. "Methods of counting Asian houbara bustard. Counting Houbara bustard" A technical publications of the IUCN/SSC/BirdLife Working Group on the Houbara bustard. (1999): 8-12.
- 24 Hemon, S., Paillat P., VanHeezik, Y., Judas, J. "Captive breeding of Houbara bustard sin Saudi Arabia: 11 successful years." *Poult.Sci.* 41(2000):49-250.
- 25 Launay, F., Roshier, D., Loughland, R., Aspinall, S. "Habitat use by houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenil*) in arid shrubland in the United Arab Emirates." *J. Arid Environ.* 35(1997):111-121.
- 26 Mian, A., Surahio, M. "Biology of the houbara (*Chlamydotis undulata macqueenil*) with reference to western Baluchistan." *J. Bombay Nat. Hist. Soc.* 80 (1983):111-118.
- 27 Osborne, P., Launay, F., Gliddon, D. "Wintering habitat use by houbara bustards *Chlamydotis undulata* in Abu Dhabi and implications for management." *Bioi. Conserv* 81(1997):51-56.
- 28 Schulz, H., Schulz, M., Paillat, P., Gaucher, P., Eichaker, X. "Incubation Parameters of the Houbara (*Chlamydotis undulata*)." Unpublished report, National Wildlife Research Center, Ta'if, Saudi Arabia. (1991).
- 29 Seddon, P., Heezik, Y. "Seasonal changes in houbara bustard *Chlamydotis undulata macqueenii* numbers in Harrat al-Harrah, Saudi Arabia: implications for managing a remnant population." *Bioi. Conserv.* 75 (1996):139-146.
- 30 Surahio, M. "Ecology and distribution of houbara bustards in Sind". *Bustard Studies* 3 (1985):55-58.

References

- 1 Alekseyev A.F. (1980). Drofa-krasotka (*Chlamydotis undulata macqueenii*) v Severo-Zapadnykh Kyzylkumakh [Houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenii*) in the North-West Kyzylkum.] *Zool. Journal*, – vol. 59, no 8. pp. 1263-1266.
- 2 Berezovikov N.N., Anisimov E.A. (2012). K rasprostraneniyu dzheka *Chlamydotis undulata* v zapadnoy chasti Alakolskoy kotloviny [To the distribution of the houbara bustard *Chlamydotis undulata* in the western part of the Alakol hollow]. *Russian ornithological journal*, vol. 21, pp. 807.
- 3 Borisenko V.A. (2003). O chislennosti krasavki *Anthropoides virgo. strepeta* Otis tetrax. drofy Otis tarda i dzheka *Chlamydotis undulata* v nekotorykh rayonakh Kazakhstana [About the numbers of demoiselle *Anthropoides virgo*, little bustard *Otis tetrax*, bustards *Otis tarda* and jacka *Chlamydotis undulata* in some regions of Kazakhstan]. *Russian ornithological journal*, Express vol., no. 224. pp. 609-611.
- 4 Child, G., Grainger, J. "A system plan for protected areas for wildlife conservation and sustainable development in Saudi Arabia" *National Commission for Wildlife Conservation and Development.* 256 (1990): 127-34.
- 5 Collar, N., Goriup, P. "The ICBP Fuerteventura Houbara Expedition: introduction" *Bustard Studies* 1 (1983a): 1–8.
- 6 Collar, N. "A history of the Houbara in the Canaries." *Bustard Studies* 1(1983): 9–30.
- 7 Collar, N., Crosby, M., Stattersfield, A. "Birds to watch 2 the world list of threatened birds" *Birdlife Conservation Series* 4 (1994): 1-407.
- 8 Combreau, O., Smith, T. "Summer habitat selection by houbara bustards introduced in central Saudi Arabia" *Journal of Arid. Environ.* 36(1997): 149-160.
- 9 Combreau, O., Riou, S., Judas, J., Lawrence, M. "Population structure, migratory connectivity and inference on gene exchange mechanisms in the Asian Houbara Bustard *Chlamydotis macqueenii*: a summary of recent findings *Biodiversity Conservation in the Arabian Peninsula*". *Zoology in the Middle East* 3(2011): 107-110.
- 10 Gubin B.M. (1986). Chislennost, raspredeleniye i sostoyaniye okhrany dzheka na yuge Kazakhstana. [Number, distribution and condition of protection of houbara bustard in the south of Kazakhstan]. *Bustards and ways of their preservation, Moskva: Nauka.* P. 92-97.
- 11 Gubin B.M., Sklyarenko S.L. (1990). Dzhek - *Chlamydotis undulata* Jacquin. 1784 [Houbara bustard- *Chlamydotis undulata* Jacquin, 1784]. *Rare animals of the desert, Alma-Ata*, P. 113-135.
- 12 Gubin B.M. (2003). Dzhek [Houbara bustard]. *Methods of accounting for the main hunting and trade animals and rare animals in Kazakhstan. Almaty*, P. 174-190.
- 13 Gubin B.M. (2007). Dzhek - *Chlamydotis undulata* (Jacquin. 1784) [Houbara bustard- *Chlamydotis undulata* (Jacquin. 1784)]. *Birds of Central Asia, –Almaty*, v. 2, pp. 395-403.
- 14 Gubin B.M. (2016). Rasprostraneniye i chislennost drofy-krasotki v Kazakhstane [Distribution and abundance of houbara bustard in Kazakhstan]. *Russian ornithological journal*, vol. 25. pp. 515-517.
- 15 Goriup, P. "The world status of the Houbara bustard *Chlamydotis undulata*" *Bird Conservation International* 7(1997): 373-397.
- 16 Groombridge, B. 1994 IUCN Red List of threatened animals. Gland, Switzerland (1993): IUCNR.
- 17 Gubin, B. "The numbers, distribution and state of protection of the houbara bustard in the south of Kazakhstan" *Bustard studies* 5 (1992): 98-103.
- 18 Gubin, B. "Methods of counting Asian houbara bustard. Counting Houbara bustard" A technical publications of the IUCN/SSC/BirdLife Working Group on the Houbara bustard. (1999): 8-12.
- 19 Hemon, S., Paillat P., VanHeezik, Y., Judas, J. "Captive breeding of Houbara bustard sin Saudi Arabia: 11 successful years" *Poult.Sci.* 41(2000):49-250.

- 20 Kovalenko A.V., Meldebekov A.M., Bayzhanov M. Kh., Sklyarenko S.L. (2012). Dinamika chislennosti drofy-krasotki v usloviyakh gosudarstvennykh zapovednykh zon i Andasayskogo goszakaznika [Dynamics of number and distribution of Houbara Bustard in conditions of state protected areas and the Andasai state Game Reserve]. Materials of Int. Scientific. Conf. "Zoological research for 20 years of independence of the Republic of Kazakhstan", Almaty. P. 250-254.
- 21 Launay, F., Roshier, D., Loughland, R., Aspinall, S. "Habitat use by houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenii*) in arid shrubland in the United Arab Emirates" *J. Arid Environ.* 35 (1997):111-121.
- 22 Meklenburtsev R.N. (1990). Semeystvo Drofinyye - Otidae [Family Bustards- Otidae]. Birds of Uzbekistan, Tashkent. V. 2: P.7-16.
- 23 Mian, A., Surahio, M. "Biology of the houbara (*Chlamydotis undulata macqueenii*) with reference to western Baluchistan." *J. Bombay Nat. Hist. Soc.* 80 (1983):111-118.
- 24 Osborne, P., Launay, F., Gliddon, D. "Wintering habitat use by houbara bustards *Chlamydotis undulata* in Abu Dhabi and implications for management." *Biol. Conserv* 81(1997):51-56.
- 25 Sklyarenko S.L. (2005). Uchet dzheka v Zhusandalinskoy zapovednoy zone [Accounting houbara bustard in the Zhusandalinsky reserved zone]. *Kazakhstan Ornithological Bulletin* 2004, pp. 56-58.
- 26 Sklyarenko S.L., Shmidt I.N. (2008). Ornitologicheskiye nablyudeniya v Zhusandalinskoy zapovednoy zone i Andasayskom zakaznike v 2007 g. [Ornithological observations in the Zhusandalinsky reserved zone and the Andasai Game Reserve in 2007]. *Kazakhstan Ornithological Bulletin* 2007, pp. 58-61.
- 27 Sklyarenko S.L. (2009). O chislennosti dzheka (*Chlamydotis macqueenii*) v Zhusandalinskoy zapovednoy zone i Andasayskom zakaznike (Kazakhstan) v 2004-2008 gg. [About number of Houbara Bustards (*Chlamydotis macqueenii*) in the Zhusandalinsky reserved zone and Andasaysky Game Reserve (Kazakhstan) in 2004-2008]. *Bustards of the Palearctic: breeding and conservation. Inter-department scientific and methodical articles. Moscow zoo*, pp. 129-140
- 28 Schulz, H., Schulz, M., Paillat, P., Gaucher, P., Eichaker, X. "Incubation Parameters of the Houbara (*Chlamydotis undulata*)." Unpublished report, National Wildlife Research Center, Ta'if, Saudi Arabia. (1991).
- 29 Seddon, P., Heezik, Y. "Seasonal changes in houbara bustard *Chlamydotis undulata macqueenii* numbers in Harrat al-Harrah, Saudi Arabia: implications for managing a remnant population." *Biol. Conserv.* 75 (1996):139-146.
- 30 Surahio, M. "Ecology and distribution of houbara bustards in Sind". *Bustard Studies* 3 (1985):55-58.

Сайлаубаева М.¹, Атамбаева Ш.А.², Ниязова Р.Е.³

¹студент факультета биологии и биотехнологии, e-mail: Meruert94@inbox.ru

²кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

³кандидат биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, e-mail: raygul.niyazova@kaznu.kz

Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии,
Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

**ГЕНЫ И miRNA, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА РЕПРОДУКТИВНОСТЬ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

В работе было изучено связывание miRNA с mRNA генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных. Было найдено 39 генов, ответственных за репродуктивность таких животных, как: *Bos taurus* (корова), *Bos mutus* (як), *Gallus gallus* (курица), *Sus scrofa* (свинья), *Capra hircus* (коза), *Equus caballus* (лошадь) и *Ovis aries* (овца).

В mRNA генов, ответственных за репродуктивность данных сельскохозяйственных животных, найдено 65 сайтов связывания для 63 miRNA. Из них 29 сайтов расположены в CDS, 11 – в 5'UTR и 40 – в 3'UTR. Было выявлено, что некоторые miRNA имеют несколько сайтов связывания с mRNA генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных. Так гены EGF имеет 13 сайтов связывания, RYR1 – 12 сайтов связывания, THRSP – 8 сайтов связывания, FASN – 8 сайтов связывания, HIF1AN – 8 сайтов связывания, PIK3R1 – 7 сайтов связывания, SCD1 – 6 сайтов связывания. Было показано, что miR-3195 связывается с геном PIK3R1 с отношением $\Delta G/\Delta G_m$ равным 96%, miR-3141, miR-466, miR-7162-3p с $\Delta G/\Delta G_m$ равным 95-96% связываются с генами MFGE8, GDF9, CAST соответственно.

Ключевые слова: miRNA, mRNA, сайты связывания, гены-мишени.

Sailaubayeva M.¹, Atambayeva Sh.A.², Niyazova R.E.³

¹student of the Biology and Biotechnology Faculty, e-mail: Meruert94@inbox.ru

²candidate of biological sciences, docent, leading researcher, e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

³candidate of biological sciences, professor, leading researcher, e-mail: Raygul.Niyazova@kaznu.kz*

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

Genes and microRNAs are associated with the productivity of farm animals

In this study, the binding of miRNA to mRNA genes responsible for the reproductivity of farm animals was studied. It was identified 39 genes responsible for the productivity of *Bos taurus* (cow), *Bos mutus* (yak), *Gallus gallus* (chicken), *Sus scrofa* (pig), *Capra hircus* (goat), *Equus caballus* (horse) and *Ovis aries* (sheep) farm animals and binding there mRNAs with miRNAs was studied. It was found 65 binding sites for 63 miRNAs. From thus, 29 binding sites are located in the CDS, 11 - in the 5'UTR and 40 - in the 3'UTR. Some miRNAs have multiple binding sites with mRNA of genes responsible for the productivity of farm animals. EGF gene has thirteen binding sites, RYR1 has twelve binding sites, THRSP has eight binding sites, FASN has eight binding sites, HIF1AN has eight binding sites, PIK3R1 has seven binding sites, SCD1 has six binding sites. miR-3195 binds with PIK3R1 gene mRNA with $\Delta G/\Delta G_m$ value equal to 96%, miR-3141, miR-466, miR-7162-3p binds with genes MFGE8, GDF9, CAST with $\Delta G/\Delta G_m$ value equal to 95-96%.

Key words: miRNA, mRNA, binding sites, target genes.

Сайлаубаева М.¹, Атамбаева Ш.А.², Ниязова Р.Е.³

¹биология және биотехнология факультетінің студенті, e-mail: Meruert94@inbox.ru

²биология ғылымдарының кандидаты, доцент, жетекші ғылыми қызметкер,
e-mail: shara.atambaeva@kaznu.kz

³биология ғылымдарының кандидаты, профессор, жетекші ғылыми қызметкер,
e-mail: raygul.niyazova@kaznu.kz

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

Ауыл шаруашылық жануарларының өнімділігіне жауапты гендер және miRNA

Жұмыста ауыл шаруашылық жануарларының өнімділігіне жауап беретін гендердің mRNA мен miRNA-дың байланысуы зерттелген. *Bos taurus* (сиыр), *Bos mutus* (як), *Gallus gallus* (тауық еті), *Sus scrofa* (шошқа), *Capra hircus* (ешкі), *Equus caballus* (жылқы), *Ovis aries* (қой) сияқты ауыл шаруашылық жануарларының өнімділігіне жауап беретін 39 гендер анықталды. Бұл ауыл шаруашылық жануарларының өнімділігіне жауап беретін гендердің mRNA-сында 63 miRNA үшін 65 байланысу сайттар бар екені анықталды. Олардың 29 сайттары CDS, 11 – 5'UTR және 40 – 3'UTR учаскілерінде орналасқаны анықталды. Кейбір miRNA үшін бірнеше байланысу сайттар бар екені анықталды. Мысалы EGF геннің mRNA-сында – он үш сайт, RYR1 геннің mRNA-сында – он екі сайт, THRSP геннің mRNA-сында – сегіз сайт, FASN геннің mRNA-сында – сегіз сайт, HIF1AN геннің mRNA-сында – сегіз сайт, PIK3R1 геннің mRNA-сында – жеті сайт, SCD1 геннің mRNA-сында – алты сайт табылды. miR-3195 PIK3R1 генімен байланысады, G/ G_m 96%-ға тең болды, miR-3141, miR-466, miR-7162-3p MFGE8, GDF9, CAST гендерімен байланысады, G/ G_m 95-96%-ға тең болды.

Түйін сөздер: miRNA, mRNA, байланысу сайттары, нысана-гендер.

Животноводство считается важнейшей отраслью сельского хозяйства, дающей более половины его валовой продукции. В современных условиях одной из стратегически весомых задач агропромышленного комплекса считается развитие животноводства, которое не возможно без разработки инновационных методов селекционно-племенной работы, внедрения информационных технологий и рационального применения генетических ресурсов (Bakoyev, 2009: 22-23; Kolosov, 2010; Leonova, 2012: 191).

Особое значение приобретает внедрение в практическую селекцию достижений молекулярной генетики, позволяющих проводить оценку животных на генетическом уровне, т. е. исследовать детерминанты формирования продуктивности, применяя молекулярно-генетические маркеры (ДНК-маркеры) в генетическом мониторинге и управлении селекционным процессом (Getmantseva, 2013: 143-146).

В качестве перспективных генов-маркеров репродуктивности свиней выделяют несколько генов: RYR-1 (рианодинный рецептор-1), IGF2 (инсулиноподобный фактор роста 2), MC4R (рецептор меланокортина 4), POU1F1 (гипофизарный фактор транскрипции), ESR (рецептор эстрогена), PRLR (рецептора пролактина), FSHb (фолликулостимулирующий гормон), и др. В качестве перспективных генов-маркеров репродуктивности коров выделяют гены CSN3 (капаказеина), GH (гормона роста), PRL (пролактина), LGB (лактоглобулина) и др. В качестве перспективных генов-маркеров репродуктивности овец выделяют гены GDF9 (дифференциальный

фактор роста), BMPR-IB (рецептора морфогенетического белка костей), BMP-15 (костный морфогенетический белок 15) и др. (Shirokova, 2013: 785-787).

В настоящее время изучению свойств miRNA и их регулирующей роли в экспрессии генов уделяется огромное внимание в различных направлениях биотехнологии, биологии и медицины (Lee, 2013: 97-126; Meunier, 2013: 34-45). miRNA принимают участие в регуляции практически всех процессов, определяющих дифференцировку клеток, рост и развитие организмов (Van Wynsberghe, 2011: 219-252; Gurtan, 2013: 3582-600). В данной работе представлена информация по сбору данных о генах и miRNA, связанных с репродуктивностью животных. Изучалось влияние miRNA на экспрессию генов, ответственных за репродуктивность.

Материалы и методы

В базе данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) был произведен поиск генов, при этом было использован термин «репродуктивность» как ключевое слово (подбор ключевых слов был в различных вариациях). Так, на каждый запрос по репродуктивности поиск выдавал несколько сот генов-кандидатов, все из которых проверялись отдельно. Проверка проводилась путем поиска связи этого гена с соответствующим животным в публикациях за последние двадцать лет (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Таким образом, выяснялась связь гена с соответствующим животным и создавались базы генов, от-

ветственных за репродуктивность. В качестве материала исследования использованы нуклеотидные последовательности сельскохозяйственных животных: *Bos taurus* (корова), *Bos mutus* (як), *Gallus gallus* (курица), *Sus scrofa* (свинья), *Capra hircus* (коза), *Equus caballus* (лошадь) и *Ovis aries* (овца), взятые из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности miRNA данных животных взяты из базы данных miRBase (<http://mirbase.org>). Определение характеристик связывания miRNA с mRNA генов-мишеней проводили с помощью программы MirTarget, которая находит: начало сайтов связывания miRNA с mRNA; расположение сайтов в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), в белок-кодирующей части (CDS) и в 3'UTR mRNA; свободную энергию гибри-

дизации (ΔG , kJ/mole) и схемы взаимодействия нуклеотидов miRNA с mRNA. Рассчитано отношение $\Delta G/\Delta G_m$ (%), где ΔG_m равно свободной энергии связывания miRNA с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Сайты связывания miRNA с mRNA отобраны с отношением $\Delta G/\Delta G_m$ равным более 85%. Позиция сайтов связывания указана от первого нуклеотида mRNA.

Результаты и их обсуждение

Нами был произведен поиск генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных, в результате которого была создана база данных из 39 генов-кандидатов (табл.1).

Таблица 1 – Некоторые гены, ответственные за репродуктивность сельскохозяйственных животных

Ген	Кодируемый белок	Объект	PMID
<i>CSN3</i>	casein haplotype (каппа-казеин)	корова	26947288
<i>GH</i>	growth hormone (гормон роста)	корова	28215881
<i>PRL</i>	prolactine (пролактин)	корова	3100344
<i>LGB</i>	β -lactoglobulin (лактоглобулин)	корова/овца	24796806
<i>β-casein</i>	casein beta (бета-казеин)	корова/буйвол	28084661
<i>DGAT1</i>	diacylglycerol O-acyltransferase 1 (оацилтрансфераза диацилглицерина 1)	корова/бык	21446190
<i>SCD1</i>	stearoyl-CoA desaturase (стеароил-КоА-десатураза)	корова/коза	27173340
<i>ACACA</i>	acetyl-CoA carboxylase 1 (ацетил-КоА-карбоксилаза альфа)	корова	25548205
<i>GHR</i>	growth hormone receptor (гормональный рецептор роста)	бык	17785604
<i>CXCR1</i>	chemokine receptor (хемокиновый рецептор-1)	корова	24796806
<i>MFGE8</i>	milk fat globule-EGF factor 8 protein (молочная жировая глобула-EGF-фактор 8-белок)	корова	24796806
<i>THRSP</i>	thyroid hormone responsive (адаптивный гормон щитовидной железы)	корова	23415532
<i>GDF9</i>	growth differentiation factor (дифференциальный фактор роста)	овца	27487501
<i>BMPIR-IB</i>	bone morphogenetic protein receptor type IB (рецептор морфогенетического белка костей)	овца	24793585
<i>BMP-15</i>	bone morphogenetic protein (костный морфогенетический белок 15)	овца	28928950
<i>RYR-1</i>	guanine receptor (рианодинотворный рецептор-1)	свинья	22062741

<i>IGF2</i>	insulin like growth factor-2 (инсулиноподобный фактор роста 2)	свинья	28856768
<i>MC4R</i>	melanocortin-4 receptor (рецептор меланокортина 4)	свинья	24707962
<i>POU1F1</i>	pituitary-specific transcription factor (гипофизарный фактор транскрипции)	свинья	17264241
<i>ESR</i>	estrogen receptor (рецептор эстрогена)	свинья	27119729
<i>PRLR</i>	prolactin receptor (рецептор пролактин)	свинья	23576686
<i>FSHb</i>	follicle-stimulating hormone (фолликулостимулирующий гормон)	свинья	7789177
<i>MSTN</i>	myostatin (миостатин)	свинья	23134308
<i>CAST</i>	calpastatin (кальпастатин)	свинья	28856768
<i>FASN</i>	fatty acid synthase (синтаза жирной кислоты)	свинья	26255706
<i>ACSM5</i>	acyl-coenzyme A synthetase (ацилкофермент синтаза)	свинья	27666082
<i>CROT</i>	carnitine O-octanoyltransferase (карнитин О-Октаноилтрансфераза)	свинья	27666082
<i>FOS</i>	fos proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit (фоско-онкоген)	свинья	17453650
<i>HIF1AN</i>	hypoxia inducible factor 1, alpha subunit inhibitor (ингибирующий альфа-субъединичный ингибитор Hypoxia Factor 1)	свинья	23296815
<i>MGLL</i>	monoacylglycerol lipase (моноглицеридная липаза)	свинья	23826865
<i>NCOA1</i>	nuclear receptor co-activator 1 (коактиватор ядерных реакторов 1)	свинья	18638664
<i>PIK3R1</i>	phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha (фосфатидилинозитол-3-киназа)	свинья	26150313
<i>PPARA</i>	peroxisome proliferator-activated receptor alpha (активированный рецептор пероксисомного альфа-активатора)	свинья	19939971
<i>HMGAI</i>	high-mobility group protein (высокомобильная группа АТ-Hook 1)	свинья	16879362
<i>FABP4</i>	fatty acid binding protein 4 (жировой белок, связывающий белок 4)	свинья	20453303
<i>EGF</i>	epidermal growth factor (эпидермальный фактор роста)	свинья	25449803
<i>H2AFZ</i>	histone H2A.Z (член H2A Histone Family Z)	свинья	27119729
<i>LEP</i>	leptin (лептин)	свинья	22497241
<i>MTTP</i>	microsomal triglyceride transfer protein (протеин для передачи микросомального триглицерида)	свинья	26255706

Были найдены как хорошо известные гены, так и мало изученные гены репродуктивности. Ген *RYR-1* (рианодиновый рецептор-1) кодирует ррианодиновый рецептор, обнаруженный в скелетных мышцах. Белок *RYR-1* функционирует как канал выделения кальция в саркоплазматическом ретикулуме, но также служит для соединения саркоплазматического ретикулума и по-

перечной трубочки (Lahucky, 1997: 277-285). Ген *IGF2* (инсулиноподобный фактор роста 2) кодирует член семейства инсулина полипептидных факторов роста, которые участвуют в развитии и росте (Zhang, 2017). Ген *MC4R* (рецептор меланокортина 4) белок, кодируемый этим геном, является мембранно-связанным рецептором и членом семейства рецепторов меланокортина,

он взаимодействует с адренкортикотропными и МСГ-гормонами и опосредуется белками G (Zhang, 2014: 508-516). Ген *POU1F1* (гипофизарный фактор транскрипции) кодирует член семейства *POU* транскрипционных факторов, которые регулируют развитие млекопитающих, данный белок регулирует экспрессию нескольких генов, участвующих в развитии гипофиза и экспрессии гормонов (Ponsuksili, 2007: 267-279). Ген *ESR* (рецептор эстрогена) кодирует рецептор эстрогена, данный эстроген и его рецепторы необходимы для полового развития и репродуктивной функции. (Hunyadi-Bagi, 2016: 359-364). Ген *PRLR* (рецептор пролактин) кодирует рецептор переднего гипофизарного гормона, пролактина и относится к семейству рецепторов цитокинов типа I (Schennink, 2013: 1-13). Ген *FSHb* (фолликулостимулирующий гормон) кодирует бета-субъединицу фолликулостимулирующего гормона, в сочетании с лютеинизирующим гормоном фолликулостимулирующий гормон индуцирует выработку яиц и сперматозоидов (Mellink, 1995: 224-227). Ген *MSTN* (миостатин) кодирует секретированный лиганд суперсемейства *TGF*-бета (трансформирующий фактор роста-бета) белков (Tu, 2012: 291-

298). Ген *CAST* (кальпастанин), кодирует белок, представляющий собой эндогенный кальпаин (кальций-зависимый ингибитор цистеиновой протеазы). Считается, что кодируемый белок влияет на уровни экспрессии генов, кодирующих структурные или регуляторные белки (Zhang, 2017). Ген *CROT* (карнитин О-октаноилтрансфераза) кодирует белок, участвующий в метаболизме липидов и бета-окислении жирных кислот (Puig-Oliveras, 2016). Ген *FOS* (фоско-онкоген) кодирует белок *FOS*, участвующий в качестве регуляторов клеточной пролиферации, дифференцировки и трансформации (Civánová, 2007: 109-115). Ген *NCOA1* (коактиватор ядерных реакторов 1) кодирует белок, действующий как транскрипционный коактиватор для рецепторов стероидов и ядерных гормонов (Wang, 2008: 208-216). Ген *PIK3R1* (фосфатидилинозитол-3-киназа) кодирует фосфатидилинозитол-3-киназу, которая играет важную роль в метаболических действиях инсулина (Jing, 2015).

В работе были также найдены miRNA, связанные с репродуктивностью сельскохозяйственных животных. Данные miRNA представлены в таблице 2.

Таблица 2 – miRNA, связанные с репродуктивностью сельскохозяйственных животных

miRNA	Объект	Accession	miRNA	Объект	Accession
miR-148a	корова/бык	MI0004737	miR-125b-2	свинья	MI0002414
miR-148a	курица	MI0001189	miR-132	корова/бык	MI0005028
miR-31	корова/бык	MI0004762	miR-132	свинья	MI0022129
miR-31	курица	MI0001276	miR-132	лошадь	MI0012770
miR-31	свинья	MI0022127	miR-224	корова/бык	MI0009783
miR-124	лошадь	MI0012662	miR-224	свинья	MI0002426
miR-122	свинья	MI0002413	miR-383	коза	MI0030778
miR-122	корова/бык	MI0005063	miR-383	лошадь	MI0012930
miR-122	коза	MI0030600	miR-383	свинья	MI0015927
miR-196	свинья	MI0002457	miR-383	корова/бык	MI0009823
miR-202	курица	MI0003699	miR-383	курица	MI0003706
miR-202	свинья	MI0013157	miR-335	корова/бык	MI0009804
miR-101	коза	MI0030589	miR-335	свинья	MI0013165
miR-101-2	корова/бык	MI0004735	miR-335	коза	MI0030747
miR-101-1	лошадь	MI0001270	miR-335	лошадь	MI0012696
miR-101-1	курица	MI0001270	miR-26a-1	курица	MI0001187

miR-140	курица	MI0001229	miR-133b	курица	MI0001206
miR-140	корова/бык	MI0005010	miR-133b	свинья	MI0013089
miR-140	свинья	MI0002437	miR-1792	курица	MI0007535
miR-140	лошадь	MI0012682	miR-21	курица	MI0004994
miR-140	коза	MI0030627	miR-21	свинья	MI0002459
miR-212	корова/бык	MI0009776	miR-21	овца	MI0014116
miR-212	свинья	MI0022140	miR-21	корова/бык	MI0004742
miR-212	лошадь	MI0012777	miR-17	курица	MI0001184
miR-7	коза	MI0030831	miR-17	свинья	MI0008214
miR-34c	корова/бык	MI0005068	miR-17	корова/бык	MI0005031
miR-34c-1	свинья	MI0013132	miR-17	овца	MI0025258
miR-449a	курица	MI0003715	miR-17	коза	MI0030648
miR-20a	корова/бык	MI0004741	miR-27b	свинья	MI0013109
miR-152	корова/бык	MI0009748	miR-27b	корова/бык	MI0004760
miR-152	свинья	MI0013104	miR-27b	курица	MI0001274
miR-152	овца	MI0025256	miR-34b	корова/бык	MI0004763
miR-181b-2	свинья	MI0002420	miR-34b	лошадь	MI0012741
miR-181b-1	курица	MI0001219	miR-34b	коза	MI0030758
miR-143	корова/бык	MI0009743	miR-34b	курица	MI0001260
miR-143	свинья	MI0013098	miR-184	корова/бык	MI0009757
miR-143	овца	MI0025253	miR-184	свинья	MI0002421
miR-143	коза	MI0030629	miR-184	курица	MI0001227
miR-143	лошадь	MI0012807	miR-184	лошадь	MI0012650
miR-26b	корова/бык	MI0004745	miR-184	коза	MI0030656
miR-378	коза	MI0030773	miR-191	овца	MI0025260
miR-378	лошадь	MI0012812	miR-191	свинья	MI0013095
miR-378-1	корова/бык	MI0009819	miR-191	лошадь	MI0012825
miR-378-1	свинья	MI0013088	miR-191	корова/бык	MI0005034
miR-125b-2	курица	MI0001175	miR-191	коза	MI0030664

miR-21 (курица, свинья, овца, корова/бык) представляет собой miRNA млекопитающих, которая кодируется геном MIR21. miR-21 была одной из первых идентифицированных miRNA млекопитающих. Зрелая последовательность miR-21 сохраняется в процессе эволюции. Ранее для miR-184 (корова/бык, свинья, курица, лошадь, коза) было описано несколько мишеней для miR-184, в том числе для медиаторов неврологического развития, апоптоза. miR-191 (овца,

свинья, лошадь, корова/бык, коза) – это семейство предшественников miRNA, встречающихся у млекопитающих, включая людей. Ранее было обнаружено, что miR-191 дисрегулируется в большом количестве различных типов опухолей человека, включая рак толстой и прямой кишки, рака молочной железы и предстательной железы, несмотря на это, целевые гены зрелой miRNA не были охарактеризованы, и неизвестно, какие факторы приводят к ее дис-

регуляции в определенных опухолевых клетках. miR-31 была охарактеризована как miRNA-супрессор опухолей, причем ее уровни варьируют в клетках рака молочной железы в зависимости от метастатического состояния опухоли. miR-122 представляет собой miRNA, которая сохраняется между видами позвоночных, она отсутствует у беспозвоночных, и никаких близких паралога miR-122 не обнаружено. Ранее было выявлено, что экспрессия miR-122 специфична для печени, где она участвует в качестве регулятора метаболизма жирных кислот в исследованиях мыши. Сниженные уровни miR-122 связаны с гепатоцеллюлярной карциномой. miR-122 также играет важную положительную роль в регуляции репликации вируса гепатита С (<http://mirbase.org>).

Нами были установлены характеристики связывания miRNA, представленные в таблице 3 с mRNA генов, ответственных за репродуктив-

ность сельскохозяйственных животных. Длина miRNA, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных, варьирует в пределах 19-23 нуклеотида. Из базы данных по miRNA, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных, 23 miRNA имели сайты связывания с $\Delta G/\Delta G_m$ менее 83% в mRNA генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных. Обнаруженные сайты локализованы в CDS, 5'UTR и в 3'UTR участках.

Было выявлено, что только 16 miRNA имели сайты связывания с $\Delta G/\Delta G_m$ более 83% в mRNA генов, остальные miRNA имели с $\Delta G/\Delta G_m$ менее 83% в mRNA генов. Обнаруженные сайты с относительно высокой энергией связывания локализованы в CDS, 5'UTR и в 3'UTR. Связывание этих miRNA с генами мишенями и их характеристики приводятся в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных с $\Delta G/\Delta G_m$ более 83%

miRNA	Ген- мишень	Позиция, н.	Участок	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, н.
miR-378 (eca)	<i>LEP</i>	785	5'UTR	-93	83	21
miR-31 (bta)	<i>PIK3R1</i>	3604	5'UTR	-93	83	21
miR-196a (ssc)	<i>ACACA</i>	4275	CDS	-93	83	22
miR-1792 (gga)	<i>RYR1</i>	4859	CDS	-104	83	23
miR-202-3p (ssc)	<i>RYR1</i>	888	CDS	-85	83	19
miR-202-3p (gga)	<i>MGLL</i>	2216	3'UTR	-96	83	22
miR-34b-3p (chi)	<i>HIF1AN</i>	93	CDS	-96	83	22
miR-34b-3p (eca)	<i>HIF1AN</i>	93	CDS	-96	83	22
miR-202-3p (ssc)	<i>RYR1</i>	2540	CDS	-85	83	19
miR-202-3p (ssc)	<i>HIF1AN</i>	2593	3'UTR	-85	83	19
miR-202-3p (ssc)	<i>ACSM5</i>	1502	CDS	-85	83	19
miR-202-3p (ssc)	<i>ACSM5</i>	1503	CDS	-85	83	19
miR-202-3p (gga)	<i>PIK3R1</i>	11881	3'UTR	-96	83	22
miR-202-5p (ssc)	<i>CROT</i>	891	CDS	-85	83	21
miR-383 (bta)	<i>BMPR-IB</i>	1755	3'UTR	-96	83	22
miR-383 (bta)	<i>IGF2</i>	940	3'UTR	-96	83	22
miR-383 (eca)	<i>BMPR-IB</i>	1755	3'UTR	-96	83	22
miR-383 (eca)	<i>IGF2</i>	940	3'UTR	-96	83	22
miR-383-5p (gga)	<i>BMPR-IB</i>	1755	3'UTR	-96	83	22
miR-383-5p (gga)	<i>IGF2</i>	940	3'UTR	-96	83	22

miR-191-3p (chi)	<i>RYRI</i>	14815	CDS	-96	83	21
miR-31-5p (gga)	<i>EGF</i>	3426	CDS	-98	84	22
miR-21-3p (gga)	<i>RYRI</i>	5481	CDS	-100	84	22
miR-31 (ssc)	<i>PIK3R1</i>	3603	5'UTR	-100	84	22
miR-26a-3p (gga)	<i>PPARA</i>	1369	CDS	-100	84	23
miR-122 (ssc)	<i>MC4R</i>	829	CDS	-100	84	23
miR-181b-1-3p (gga)	<i>EGF</i>	3896	CDS	-89	84	21
miR-17-3p (bta)	<i>CSN3</i>	615	CDS	-89	84	20
miR-17-3p (gga)	<i>CSN3</i>	615	CDS	-89	84	20
miR-143 (eca)	<i>CXCR1</i>	1415	3'UTR	-93	85	21
miR-143 (oar)	<i>CXCR1</i>	1415	3'UTR	-93	85	21
miR-143-3p (ssc)	<i>CXCR1</i>	1415	3'UTR	-93	85	21
miR-335-3p (chi)	<i>CAST</i>	1662	CDS	-93	85	22
miR-378 (eca)	<i>PIK3R1</i>	3710	5'UTR	-96	85	21
miR-31 (bta)	<i>EGF</i>	3427	CDS	-96	85	21
miR-202-3p (ssc)	<i>MFGE8</i>	1633	3'UTR	-87	85	19
miR-31 (ssc)	<i>EGF</i>	3426	CDS	-102	86	22
miR-181b-1-3p (gga)	<i>NCOA1</i>	4414	3'UTR	-91	86	21
miR-181b-1-3p (gga)	<i>FABP4</i>	3113	3'UTR	-91	86	21
miR-202-3p (gga)	<i>CXCR1</i>	1225	3'UTR	-100	87	22
miR-122 (bta)	<i>MC4R</i>	830	CDS	-100	87	22
miR-122 (chi)	<i>MC4R</i>	830	CDS	-100	87	22
miR-202-3p (ssc)	<i>RYRI</i>	6546	CDS	-91	90	19

Примечание – bta – *Bos taurus*, gga - *Gallus gallus* (курица), ssc - *Sus scrofa* (свинья), chi - *Capra hircus* (коза), eca - *Equus caballus* (лошадь), oar - *Ovis aries* (овца).

Четыре miRNA (miR-202, miR-181b, miR-31, miR-122) в таблице 3 имеют величину $\Delta G/\Delta G_m$, равную от 85% до 90% от максимальной свободной энергии связывания. Наибольшая величина $\Delta G/\Delta G_m$ наблюдается при взаимодействии miR-202-3p с mRNA гена *RYRI*, равная 90%. miR-122 связывается с mRNA гена *MC4R* с ΔG равной -100 kJ/mole. miR-202 имеет 8 генов-мишеней, она связывается с mRNA генов *RYRI*, *MGLL*, *HIF1AN*, *ACSM5*, *PIK3R1*, *CROT*, *MFGE8*, *CXCR1* с энергией от -85 kJ/mole до -100 kJ/mole и величиной $\Delta G/\Delta G_m$ равной от 83% до 90% от максимальной свободной энергии связывания. miR-181b имеет 2 гена-мишеней: *NCOA1*, *FABP4*. miR-31 имеет 2 гена-мишеней: *PIK3R1*, *EGF*. miR-122 имеет 1 ген-мишень – *MC4R*.

Белок, кодируемый геном *EGF*, действует как мощный митогенный фактор, который играет важную роль в росте, пролиферации и дифференциации многочисленных типов клеток (Gainza, 2015: 41-7). Белок, кодируемый геном *MC4R*, является мембранно-связанным рецептором и членом семейства рецепторов меланокортина (Zhang, 2014: 508-516). *RYRI* кодирует рианодиновый рецептор, обнаруженный в скелетных мышцах (Lahucky, 1997: 277-285). Белок, кодируемый геном *NCOA1*, действует как транскрипционный коактиватор для рецепторов стероидов (Wang, 2008: 208-216). *FABP4* кодирует связывающий жирную кислоту белок, обнаруженный в адипоцитах (Switonski M, Stachowiak M, Cieslak, 2010: 153-68). Белок, кодируемый геном

CXCR1, является членом семейства рецепторов, связанных с G-белком. Этот белок является рецептором для интерлейкина 8 (IL8) (Fontanesi, 2014: 576-80). *MFGE8* кодирует белковый продукт – мембранный гликопротеин, который способствует фагоцитозу апоптотических клеток (Fontanesi, 2014: 576-80).

Таким образом, полученные результаты (табл. 3) свидетельствуют о том, что miRNA, представленные в таблице 2, в основном не связываются с mRNA генов, ответственных за репродуктивность животных, представленных в

таблице 1, что свидетельствует о том, что данные miRNA не могут быть использованы для регуляции экспрессии генов, ответственные за репродуктивность сельскохозяйственных животных. Для выявления miRNA, способные регулировать репродуктивную систему сельскохозяйственных животных нами был проведен анализ связывания mRNA генов со всеми известными miRNA из базы данных miRBase, полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, ответственных за репродуктивность сельскохозяйственных животных с $\Delta G/\Delta G_m$ более 90%

miRNA	Ген-мишень	Позиция, н.	Участок	ΔG , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, н.
miR-3665	<i>ESR</i>	198	5'UTR	-98	90	18
miR-4292	<i>FASN</i>	3614	CDS	-98	90	18
miR-506-5p	<i>NCOA1</i>	3249	CDS	-98	90	22
miR-1268a	<i>RYR1</i>	10006	CDS	-98	90	18
miR-4455	<i>HIF1AN</i>	7456	3'UTR	-79	90	17
miR-4455	<i>PIK3R1</i>	2004	5'UTR	-79	90	17
miR-3141	<i>GDF9</i>	2477	3'UTR	-100	90	19
miR-130b-5p	<i>LGB</i>	110	5'UTR	-100	90	21
miR-4488	<i>RYR1</i>	8250	CDS	-100	90	18
miR-4317	<i>CXCR1</i>	302	CDS	-81	90	17
miR-4306	<i>HIF1AN</i>	5333	3'UTR	-81	90	17
miR-3664-5p	<i>FABP4</i>	5887	3'UTR	-102	91	22
miR-6716-5p	<i>HIF1AN</i>	2706	3'UTR	-102	91	20
miR-7158-3p	<i>HIF1AN</i>	4308	3'UTR	-102	91	21
miR-4466	<i>RYR1</i>	15244	3'UTR	-102	91	18
miR-4251	<i>IGF2</i>	1083	3'UTR	-83	91	17
miR-1286	<i>RYR1</i>	1445	CDS	-104	91	21
miR-6829-3p	<i>RYR1</i>	12932	CDS	-104	91	20
miR-6090	<i>FASN</i>	1239	CDS	-106	91	19
miR-6740-5p	<i>HIF1AN</i>	2573	3'UTR	-106	91	22
miR-4468	<i>HMAG1</i>	1470	3'UTR	-85	91	18
miR-5194	<i>FOS</i>	259	CDS	-108	91	22
miR-6783-3p	<i>FSHB</i>	583	3'UTR	-108	91	22
miR-7110-5p	<i>MFGE8</i>	1633	3'UTR	-108	91	21
miR-4534	<i>FASN</i>	4627	CDS	-87	91	17

miR-1199-5p	<i>PIK3R1</i>	7696	5'UTR	-110	91	20
miR-197-3p	<i>PIK3R1</i>	7259	5'UTR	-110	91	22
miR-3186-5p	<i>RYR1</i>	3045	CDS	-110	91	22
miR-490-3p	<i>RYR1</i>	393	CDS	-110	91	22
miR-4305	<i>FASN</i>	3504	CDS	-89	91	18
miR-1275	<i>LEP</i>	1337	3'UTR	-89	91	17
miR-1281	<i>MFGE8</i>	1838	3'UTR	-89	91	17
miR-1281	<i>RYR1</i>	8612	CDS	-89	91	17
miR-4314	<i>MTTP</i>	1566	CDS	-89	91	18
miR-939-3p	<i>ACSM5</i>	192	5'UTR	-113	91	21
miR-1228-5p	<i>HMAG1</i>	822	3'UTR	-113	91	21
miR-5008-3p	<i>RYR1</i>	13355	CDS	-113	91	21
miR-4516	<i>HIF1AN</i>	1344	3'UTR	-91	91	17
miR-4650-5p	<i>PIK3R1</i>	8633	CDS	-91	91	19
miR-4710	<i>MFGE8</i>	345	CDS	-93	92	18
miR-3656	<i>FASN</i>	7571	3'UTR	-96	92	17
miR-4432	<i>HMGA1</i>	533	CDS	-96	92	20
miR-6127	<i>GDF9</i>	2481	3'UTR	-100	92	19
miR-6780a-3p	<i>NCOA1</i>	4332	CDS	-100	92	21
miR-6087	<i>PIK3R1</i>	7578	5'UTR	-100	92	18
miR-3141	<i>MFGE8</i>	1375	3'UTR	-102	92	19
miR-4727-5p	<i>HIF1AN</i>	6871	3'UTR	-106	93	21
miR-6748-3p	<i>HIF1AN</i>	4165	3'UTR	-106	93	21
miR-7704	<i>PIK3R1</i>	7441	5'UTR	-106	93	19
miR-4310	<i>GH</i>	635	CDS	-81	93	16
miR-4328	<i>RYR1</i>	13739	CDS	-83	93	17
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3562	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3564	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3566	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3568	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3570	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3572	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3574	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3576	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3578	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3580	3'UTR	-113	93	23
miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3582	3'UTR	-113	93	23

miR-574-5p	<i>FABP4</i>	3584	3'UTR	-113	93	23
miR-4267	<i>FASN</i>	845	CDS	-85	93	16
miR-4279	<i>THRSP</i>	343	CDS	-85	93	16
miR-4308	<i>RYR1</i>	4175	CDS	-87	93	18
miR-4534	<i>FASN</i>	4628	CDS	-89	93	17
miR-4478	<i>IGF2</i>	204	5'UTR	-89	93	17
miR-4478	<i>SCD1</i>	53	5'UTR	-89	93	17
miR-4535	<i>FSHB</i>	246	CDS	-91	93	17
miR-1281	<i>RYR1</i>	11328	CDS	-91	93	17
miR-3656	<i>FASN</i>	7572	3'UTR	-98	94	17
miR-3141	<i>MFGE8</i>	1376	3'UTR	-104	94	19
miR-466	<i>GDF9</i>	1950	3'UTR	-110	95	23
miR-7162-3p	<i>CAST</i>	1021	CDS	-100	96	19
miR-3195	<i>PIK3R1</i>	7703	5'UTR	-100	96	17

Все гены в таблице 4 имеют величину $\Delta G/\Delta G_m$, равную от 90% до 96%, от максимальной свободной энергии связывания. Из 65 сайтов связывания 29 локализованы в участке CDS, 11 сайтов связывания в участке 5'UTR и 25 сайта в участке 3'UTR. mRNA генов *PIK3R1*, *CAST*, *GDF9*, *MFGE8*, *FASN*, *RYR1*, *FSHB*, *SCD1*, *IGF2*, *THRSP* имеют сайты связывания с энергией от -87 kJ/mole до -110 kJ/mole и величиной $\Delta G/\Delta G_m$, равной от 91% до 95%. *EGF* имеет 13 сайтов связывания, *RYR1* – 12 сайтов связывания, *THRSP* – 8 сайтов связывания, *FASN* – 8 сайтов связывания, *HIF1AN* – 8 сайтов связывания, *PIK3R1* – 7 сайтов связывания, *SCD1* – 6 сайтов связывания. Так ген *PIK3R1* кодирует фосфатидилинозитол-3-киназу, которая играет важную роль в метаболических действиях инсулина (Jing, 2015). Фермент, кодируемый геном *FASN*, представляет собой многофункциональный белок, его основная функция – катализировать синтез пальмитата из ацетил-СоА и малонил-СоА в присутствии НАДФН в длинноцепочечные насыщенные жирные кислоты (Renaville, 2015: 220-3). Ген *SCD1* кодирует фермент, участвующий в биосинтезе жирных кислот (Carvajal, 2016). Ген *THRSP* играет роль в регуляции липогенеза, особенно в лактирующих молочных железах, он также мо-

жет функционировать как транскрипционный коактиватор (Khan, 2013: 2171-2182). Функции остальных генов были описаны выше. Таким образом, между найденными генами, ответственными за репродуктивность сельскохозяйственных животных и микроРНК из базы данных miRBase, были установлены эффективные ассоциации для таких генов, как *PIK3R1* (фосфатидилинозитол-3-киназа), *CAST* (кальпастанин), *GDF9* (дифференциальный фактор роста), *MFGE8* (молочная жировая глобула-EGF-фактор 8-белок), *RYR1* (рианодиновый рецептор-1) и др., и для таких микроРНК как miR-3656, miR-3141, miR-466, miR-7162-3p, miR-3195 и др., так величина $\Delta G/\Delta G_m$ в данных ассоциациях была равна от 90% до 96%. Общие задачи, которые необходимо решать в отрасли животноводства, состоят в том, чтобы обеспечить рост репродуктивности и соответственно поголовья скота и, одним из способов повышения репродуктивности сельскохозяйственных животных может служить использование представленных генов в качестве мишеней для miRNA. Выявленные ассоциации дают основу для разработки технологий по увеличению поголовья сельскохозяйственных животных путем регуляции экспрессии генов репродуктивности.

Литература

- 1 Бакоев С. Ю., Ендовицкий А. П., Калиниченко В. П., Иваненко А. А. Компьютерная программа ION-2 для расчета ассоциативного равновесия в почвенном растворе // Плодородие. – 2009. – № 6. – С. 22–23.
- 2 Колосов А. Ю. Использование селекционных индексов и информационных технологий для интенсификации племенного отбора в свиноводстве: Автореф. канд. с.-х. наук, п. Персиановский, 2010.
- 3 Леонова М. А. Разработка технологии обогащенного сыровортного кисломолочного напитка с функциональными свойствами // Научно-технический вестник Поволжья. – 2012. – № 1. – С. 191.
- 4 Гетманцева Л. В., Михайлов Н. В., Колосов А. Ю., Радюк А. В. Полиморфизм гена MUC4 и воспроизводительные качества свиней // Известия нижеволжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. – 2013. – Т. 1, № 3–1 (31). – С. 143–146.
- 5 Широкова Н. В. Генетическое детерминирование плодовитости овец // Молодой ученый. – 2013. – № 6. – С. 785–787.
- 6 Lee S, Vasudevan S. “Post-transcriptional stimulation of gene expression by microRNAs.” *Adv Exp Med Biol.* 2013; 768:97-126.
- 7 Meunier J, Lemoine F, Soumillon M, Liechi A, Weier M, Guschanski K, Hu H, Khaitovich P, Kaessmann H. “Birth and expression evolution of mammalian microRNA genes” *Genome Res.* 2013; 23(1):34-45.
- 8 Van Wynsberghe P, Chan S, Slack F, Pasquinelli A. “Analysis of microRNA expression and function” *Methods Cell Biol.* 2011; 106:219-252.
- 9 Gurtan AM, Sharp PA. “The role of miRNAs in regulating gene expression networks” *J Mol Biol.* 2013; 425(19):3582-600.
- 10 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 11 <http://www.genecards.org/>
- 12 <http://www.mirbase.org>
- 13 Lahucky R, Christian LL, Kovac L, Stalder KJ, Bauerova M. “Meat quality assessed Ante- and Post mortem by different ryanodine receptor gene status of pigs.” *Meat Sci.* 1997; 47(3-4):277-85.
- 14 Zhang J, Chai J, Luo Z, He H, Chen L, Liu X, Zhou Q. “Meat and nutritional quality comparison of purebred and crossbred pigs.” *Anim Sci J.* 2017. doi: 10.1111/asj.12878.
- 15 Zhang CY, Wang Z, Bruce HL, Janz J, Goddard E, Moore S, Plastow GS. “Associations between single nucleotide polymorphisms in 33 candidate genes and meat quality traits in commercial pigs.” *Anim Genet.* 2014; 45(4):508-16. doi: 10.1111/age.12155.
- 16 Ponsuksili S, Murani E, Walz C, Schwerin M, Wimmers K. “Pre- and postnatal hepatic gene expression profiles of two pig breeds differing in body composition: insight into pathways of metabolic regulation.” *Physiol Genomics.* 2007; 29(3):267-79.
- 17 Hunyadi-Bagi A, Balogh P, Nagy K, Kusza S. “Association and polymorphism study of seven candidate genes with reproductive traits in three pig breeds in Hungary.” *Acta Biochim Pol.* 2016; 63(2):359-64. doi: 10.18388/abp.2015_1188.
- 18 Schennink A, Trott JF, Freking BA, Hovey RC. “A novel first exon directs hormone-sensitive transcription of the pig prolactin receptor.” *J Mol Endocrinol.* 2013; 51(1):1-13. doi: 10.1530/JME-12-0234.
- 19 Mellink C, Lahbib-Mansais Y, Yerle M, Gellin J. “PCR amplification and physical localization of the genes for pig FSHB and LHB.” *Cytogenet Cell Genet.* 1995; 70(3-4):224-7.
- 20 Tu PA, Shiau JW, Ding ST, Lin EC, Wu MC, Wang PH. “The association of genetic variations in the promoter region of myostatin gene with growth traits in Duroc pigs.” *Anim Biotechnol.* 2012; 23(4):291-8. doi: 10.1080/10495398.2012.709205.
- 21 Puig-Oliveras A, Revilla M, Castelló A, Fernández AI, Folch JM, Ballester M. “Expression-based GWAS identifies variants, gene interactions and key regulators affecting intramuscular fatty acid content and composition in porcine meat.” *Sci Rep.* 2016; 6:31803. doi: 10.1038/srep31803.
- 22 Cívánová K, Knoll A. “SNaPshot minisequencing and a panel of candidate genes for complex routine testing of meat performance traits in pigs.” *Anim Biotechnol.* 2007; 18(2):109-15.
- 23 Wang X, Chen J, Liu H, Xu Y, Wang X, Xue C, Yu D, Jiang Z. “The pig p160 co-activator family: full length cDNA cloning, expression and effects on intramuscular fat content in Longissimus Dorsi muscle.” *Domest Anim Endocrinol.* 2008; 35(2):208-16. doi: 10.1016/j.domaniend.2008.05.006.
- 24 Jing L, Hou Y, Wu H, Miao Y, Li X, Cao J, Brameld JM, Parr T, Zhao S. “Transcriptome analysis of mRNA and miRNA in skeletal muscle indicates an important network for differential Residual Feed Intake in pigs.” *Sci Rep.* 2015; 5:11953. doi: 10.1038/srep11953.
- 25 Gainza G, Bonafonte DC, Moreno B, Aguirre JJ, Gutierrez FB, Villullas S, Pedraz JL, Igartua M, Hernandez RM. “The topical administration of rhEGF-loaded nanostructured lipid carriers (rhEGF-NLC) improves healing in a porcine full-thickness excisional wound model.” *J Control Release.* 2015; 197:41-7. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.10.033.
- 26 Switonski M, Stachowiak M, Cieslak J, Bartz M, Grzes M. “Genetics of fat tissue accumulation in pigs: a comparative approach.” *J Appl Genet.* 2010; 51(2):153-68. doi: 10.1007/BF03195724.
- 27 Fontanesi L, Calò DG, Galimberti G, Negrini R, Marino R, Nardone A, Ajmone-Marsan P, Russo V. “A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle.” *Anim Genet.* 2014; 45(4):576-80. doi: 10.1111/age.12164.
- 28 Renaville B, Bacciu N, Lanzoni M, Corazzin M, Piasentier E. “Polymorphism of fat metabolism genes as candidate markers for meat quality and production traits in heavy pigs.” *Meat Sci.*; 110:220-3. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.07.014.
- 29 Carvajal AM, Huircan P, Dezamour JM, Subiabre I, Kerr B, Morales R, Ungerfeld EM. “Milk fatty acid profile is modulated by DGAT1 and SCD1 genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation.” *Genet Mol Res.* 2016; 15(2).doi: 10.4238/gmr.15027057.
- 30 Khan MJ, Hosseini A, Burrell S, Rocco SM, McNamara JP, Looor JJ. “Change in subcutaneous adipose tissue metabolism and gene network expression during the transition period in dairy cows, including differences due to sire genetic merit.” *J Dairy Sci.* 2013; 96(4):2171-2182. doi: 10.3168/jds.2012-5794.

References

- 1 Bakoyev S.Yu., Endovitskiy A.P., Kalinichenko V.P., Ivanenko A.A. «Kompyuternaya programma ION-2 dlya rascheta asotsiatsionnogo ravnovesiya v pochvennom rastvore» [Computer program ION-2 for calculation of associational equilibrium in soil solution] *Plodorodiye* №6 (2009): 22–23 (In Russian).
- 2 Kolosov A.Yu. Ispolzovaniye selektsionnykh indeksov i informatsionnykh tekhnologiy dlya intensivatsii plemennogo otbora v svinovodstve [The use of selection indexes and information technologies for the intensification of breeding in pigs] *Avtoref. kand. s.-kh. nauk. p. Persianovskiy.* (2010) (In Russian).
- 3 Leonova M.A. Razrabotka tekhnologii obogashchennogo syvortochного kislomolochного napitka s funktsionalnymi svoystvami [Development of technology for enriched sour milk fermented beverage with functional properties] *Nauchno-tekhnicheskiiy vestnik Povolzhia* №1 (2012): 191 (In Russian).
- 4 Getmantseva L.V., Mikhaylov N.V. Kolosov A.Yu., Radyuk A.V. Polimorfizm gena MUC4 i vosproizvoditelnyye kachestva sviney [Polymorphism of the MUC4 gene and reproductive qualities of pigs] *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vyssheye professionalnoye obrazovaniye T. 1, № 3–1* (2013): 143–146 (In Russian).
- 5 Shirokova N.V. Geneticheskoye determinirovaniye plodovitosti ovets [Genetic Determination of the Fertility of Sheep] *Molodoy uchenyy* №6 (2013): 785–787 (In Russian).
- 6 Lee S, Vasudevan S. “Post-transcriptional stimulation of gene expression by microRNAs.” *Adv Exp Med Biol.* 2013; 768:97-126.
- 7 Meunier J., Lemoine F., Soumillon M., Liechti A., Weier M., Guschanski K., Hu H., Khaitovich P., Kaessmann H. Birth and expression evolution of mammalian microRNA genes. *Genome Res.* 2013; 23(1):34-45.
- 8 Van Wynsberghe P., Chan S., Slack F., Pasquinelli A. “Analysis of microRNA expression and function” *Methods Cell Biol.* 2011; 106:219-252.
- 9 Gurtan A.M., Sharp P.A. The role of miRNAs in regulating gene expression networks. *J Mol Biol.* 2013; 425(19):3582-600.
- 10 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 11 <http://www.genecards.org/>
- 12 <http://www.mirbase.org>
- 13 Lahucky R., Christian L.L., Kovac L., Stalder K.J., Bauerova M. “Meat quality assessed Ante- and Post mortem by different ryanodine receptor gene status of pigs.” *Meat Sci.* 1997; 47(3-4):277-85.
- 14 Zhang J., Chai J., Luo Z., He H., Chen L., Liu X., Zhou Q. “Meat and nutritional quality comparison of purebred and cross-bred pigs.” *Anim Sci J.* 2017. doi: 10.1111/asj.12878.
- 15 Zhang C.Y., Wang Z., Bruce H.L., Janz J., Goddard E., Moore S., Plastow G.S. “Associations between single nucleotide polymorphisms in 33 candidate genes and meat quality traits in commercial pigs.” *Anim Genet.* 2014; 45(4):508-16. doi: 10.1111/age.12155.
- 16 Ponsuksili S., Murani E., Walz C., Schwerin M., Wimmers K. “Pre- and postnatal hepatic gene expression profiles of two pig breeds differing in body composition: insight into pathways of metabolic regulation.” *Physiol Genomics.* 2007; 29(3):267-79.
- 17 Hunyadi-Bagi Á., Balogh P., Nagy K., Kusza S. “Association and polymorphism study of seven candidate genes with reproductive traits in three pig breeds in Hungary.” *Acta Biochim Pol.* 2016; 63(2):359-64. doi: 10.18388/abp.2015_1188.
- 18 Schennink A., Trott J.F., Freking B.A., Hovey R.C. “A novel first exon directs hormone-sensitive transcription of the pig prolactin receptor”. *J Mol Endocrinol.* 2013; 51(1):1-13. doi: 10.1530/JME-12-0234.
- 19 Mellink C., Lahbib-Mansais Y., Yerle M., Gellin J. “PCR amplification and physical localization of the genes for pig FSHB and LHB.” *Cytogenet Cell Genet.* 1995; 70(3-4):224-7.
- 20 Tu P.A., Shiau J.W., Ding S.T., Lin E.C., Wu M.C., Wang P.H. “The association of genetic variations in the promoter region of myostatin gene with growth traits in Duroc pigs.” *Anim Biotechnol.* 2012; 23(4):291-8. doi: 10.1080/10495398.2012.709205.
- 21 Puig-Oliveras A., Revilla M., Castelló A., Fernández A.I., Folch J.M., Ballester M. “Expression-based GWAS identifies variants, gene interactions and key regulators affecting intramuscular fatty acid content and composition in porcine meat.” *Sci Rep.* 2016; 6:31803. doi: 10.1038/srep31803.
- 22 Cívánová K., Knoll A. “SNaPshot minisequencing and a panel of candidate genes for complex routine testing of meat performance traits in pigs.” *Anim Biotechnol.* 2007; 18(2):109-15.
- 23 Wang X., Chen J., Liu H., Xu Y., Wang X., Xue C., Yu D., Jiang Z. “The pig p160 co-activator family: full length cDNA cloning, expression and effects on intramuscular fat content in Longissimus Dorsi muscle.” *Domest Anim Endocrinol.* 2008; 35(2):208-16. doi: 10.1016/j.domaniend.2008.05.006.
- 24 Jing L., Hou Y., Wu H., Miao Y., Li X., Cao J., Brameld J.M., Parr T., Zhao S. “Transcriptome analysis of mRNA and miRNA in skeletal muscle indicates an important network for differential Residual Feed Intake in pigs.” *Sci Rep.* 2015; 5:11953. doi: 10.1038/srep11953.
- 25 Gainza G., Bonafonte D.C., Moreno B., Aguirre J.J., Gutierrez F.B., Villullas S., Pedraz J.L., Igartua M., Hernandez R.M. “The topical administration of rhEGF-loaded nanostructured lipid carriers (rhEGF-NLC) improves healing in a porcine full-thickness excisional wound model.” *J Control Release.* 2015; 197:41-7. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.10.033.
- 26 Switonski M., Stachowiak M., Cieslak J., Bartz M., Grzes M. “Genetics of fat tissue accumulation in pigs: a comparative approach.” *J Appl Genet.* 2010; 51(2):153-68. doi: 10.1007/BF03195724.
- 27 Fontanesi L., Calò D.G., Galimberti G., Negri R., Marino R., Nardone A., Ajmone-Marsan P., Russo V. “A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle.” *Anim Genet.* 2014; 45(4):576-80. doi: 10.1111/age.12164.
- 28 Renaville B., Bacci N., Lanzoni M., Corazzin M., Piasentier E. “Polymorphism of fat metabolism genes as candidate markers for meat quality and production traits in heavy pigs.” *Meat Sci.* 2015 Dec; 110:220-3. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.07.014.
- 29 Carvajal A.M., Huircan P., Dezamour J.M., Subiabre I., Kerr B., Morales R., Ungerfeld E.M. “Milk fatty acid profile is modulated by DGAT1 and SCD1 genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation.” *Genet Mol Res.* 2016; 15(2). doi: 10.4238/gmr.15027057.
- 30 Khan M.J., Hosseini A., Burrell S., Rocco S.M., McNamara J.P., Looor J.J. “Change in subcutaneous adipose tissue metabolism and gene network expression during the transition period in dairy cows, including differences due to sire genetic merit.” *J Dairy Sci.* 2013; 96(4):2171-2182. doi: 10.3168/jds.2012-5794.

Саржігітова А.¹, Курманбаева М.², Базарғалиева А.³

¹2 курс магистранты, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,
биология және биотехнология факультеті, биоалуантүрлілік және биоресурстар кафедрасы,
Қазақстан, Алматы қ., +77477830407 e-mail: asilay_94.94@mail.ru

²биология ғылымдарының докторы, профессор м.а., әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,
биология және биотехнология факультеті, биоалуантүрлілік және биоресурстар
кафедрасының меңгерушісі, Қазақстан, Алматы қ., +77071104439

³биология ғылымдарының кандидаты, Қ. Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік мемлекеттік
университетінің доценті, Қазақстан, Ақтөбе қ.

ALNUS GLUTINOSA (L.) GAERTN. СИРЕК ТҮР ӨСІМДІКТЕР ҚАУЫМДАСТЫҚТАРЫНЫҢ ГЕОБОТАНИКАЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

Мақалада Ақтөбе облысы жағдайындағы сирек, реликт түр *Alnus glutinosa* кездесетін өсімдіктер қауымдастықтарына геоботаникалық сипаттама беріліп, флоралық құрамына талдау жасалынған. Зерттеудің мақсаты Қазақстанның Қызыл кітабына енген, сирек кездесетін, реликт түр *Alnus glutinosa* популяциясының қазіргі кездегі жағдайына геоботаникалық тұрғыдан баға беру болып табылады. Қазіргі таңда Ақтөбе облысының флорасы, бұл флорада кездесетін өсімдіктер толық зерттелмеген. Ақтөбе облысы флорасының биологиялық алуантүрлілігін сақтау аса өзекті мәселенің бірі болып отыр. Түрдің жойылуының қоршаған ортаның экологиясына үлкен әсері болады. Сондықтанда әсіресе сирек кездесетін, реликт түрлерді қорғаудың орны ерекше. *Alnus glutinosa* өсімдігі төрттік кезеңнің реликті. Ормандарды қорғау ісіне пайдалану мүмкіндігі бар декоративті өсімдік. Ақтөбе облысы жағдайында мал жаю, ағаштарды кесіп, отынға пайдалану, ұйымдаспаған туризм, табиғи жаңарудың болмауы салдарынан түрдің ареалы, сандық көлемі азайып барады. Осыған байланысты түрді толық зерттеп, қорғау және сақтау шараларын ұйымдастыру қажеттілігі туып отыр. Себебі, мұндай түрлер біздің табиғи байлығымыз. Зерттеудің нәтижесі *Alnus glutinosa* өсімдігі Қазақстан флорасында сирек кездесетін, ареалы қысқарып бара жатқан түр екендігін көрсетті. Зерттеу жүргізілген үш нүктеден барлығы 24 тұқымдас өсімдіктері анықталды.

Түйін сөздер: *Alnus glutinosa*, тіршілік формасы, популяция, флора, ярус.

Sarzhigitova A. ¹, Kurmanbayeva M. ², Bazargaliyeva A. ³

¹2nd course master's degree Bioresources department of Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty, +77477830407 e-mail: asilay_94.94@mail.ru

²doctor of biological sciences, acting professor, head of the Department of Biodiversity and Bioresources of
Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty, +77071104439

³candidate of biological sciences, assistant professor of Biology department of Aktobe Regional State
University named after K. Zhubanov, Kazakhstan, Aktobe

Geobotanical characteristics of plant communities with participation of rare species *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.

The article gives a geobotanical description and a floristic analysis of communities with the participation of the rare and relict species *Alnus glutinosa* in condition of Aktobe region. The aim of the study is to provide a geobotanical assessment of the current status of a rare, relict species of the *Alnus glutinosa* population, which was included in the Red Data Book of Kazakhstan. At present, the flora of the Aktobe region is not sufficiently studied. Conservation of the biodiversity of the Aktobe region flora is one of the most topical issues. The disappearance of the species has a great impact on the ecology of the environment. Therefore, the protection of rare and relict species is of particular importance. The *Alnus glutinosa* plant is a relict of the Quaternary period. An ornamental plant used in forest protection. In Aktobe region,

due to the lack of grazing, felling of trees, using as fuel and the emergence of uncontrolled tourism and at the same time due to the lack of natural renewal of the area, these consequences lead to a quantitative reduction in the species. In this regard, it is necessary to study the species and organize protection and conservation measures. The results of the study showed that the plant *Alnus glutinosa* is rarely found in the flora of Kazakhstan and also the distribution areas are reduced. Of the three investigated points, plants from 24 families were identified

Key words: *Alnus glutinosa*, life form, population, flora, tier.

Саржигітова А.¹, Курманбаева М.², Базарғалиева А.³

¹магистрант 2 курса кафедры биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии
Казахского национального университета имени аль-Фараби,
Казахстан, г. Алматы, +77477830407, e-mail: asilay_94.94@mail.ru

²доктор биологических наук, и.о. профессора, зав. кафедрой биоразнообразия и биоресурсов
Казахского национального университета имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, +77071104439

³кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии Актюбинского регионального
государственного университета им. К. Жубанова, Казахстан, г. Актюбе

Геоботаническая характеристика растительных сообществ с участием редкого вида *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn

В статье дается геоботаническая характеристика и флористический анализ сообществ с участием редкого и реликтового вида *Alnus glutinosa* в условиях Актюбинской области. Целью исследования является предоставление геоботанической оценки текущего состояния редкого, реликтового вида популяции *Alnus glutinosa*, которая была включена в Красную книгу Казахстана. В настоящее время флора Актюбинской области не достаточно изучена. Сохранение биоразнообразия флоры Актюбинской области является одним из наиболее актуальных вопросов. Исчезновение вида оказывает большое влияние на экологию окружающей среды. Поэтому защита редких и реликтовых видов имеет особое значение. Растение *Alnus glutinosa* является реликтом четвертичного периода. Это декоративное растение, используемое для защиты леса. В Актюбинской области из-за отсутствия выпаса скота, вырубки деревьев для использования их в качестве топлива и появления неконтролируемого туризма и в тоже время из-за отсутствия естественного обновления данные последствия ведут к количественному сокращению вида и ареала. В этой связи необходимо изучить вид и организовать меры защиты и сохранения. Результаты исследования показали, что растение *Alnus glutinosa* редко встречается во флоре Казахстана, а также сокращены ареалы распространения. В трех исследуемых точках было определено растений из 24 семейств.

Ключевые слова: *Alnus glutinosa*, жизненная форма, популяция, флора, ярус.

Кіріспе

Alnus glutinosa (L.) Gaertn. – *Betulaceae* тұқымдасына жататын, өте сирек, реликт түр. Қазақстан территориясында кездесетін түрдің алғашқы сипаттамасы «Қазақстан флорасы» 9 томдық еңбегінің үшінші томында келтірілген (Флора Казахстана 1961: 66). *Alnus glutinosa* өте сирек түр ретінде Қазақстанның Қызыл кітабына енгізілген (Красная книга Казахской ССР 1981: 52; Красная книга Казахстана 2014: 90). *Alnus* туысының 40-тан астам түрі белгілі, негізінен Солтүстік жарты шарда Еуразияда және Солтүстік Американың орманды зоналарында кеңінен тараған (Тахтаджян 1980: 311; Lamote 1953: 381). Биіктігі 20-30 метрге жететін ағаш, дінінің диаметрі 90 см-ге дейін жетеді. Бұтақтары үш қырлы немесе жұмыр, тегіс немесе сирек түкшелермен, жас дарақтар желімді, смола тәрізді заттар бөліп шығарады. Бүршіктері кері жұмы-

ртқа тәрізді, ұзындығы 9-15 см, жапырақтары қарама-қарсы жай, дөңгелек немесе кері жұмыртқа тәрізді, ұзындығы 4-9 (12) см, ені 3-6 (10) см шамасында. Аталық гүлдері майда, төртке бөлінген гүл серіктерінен тұрады. Аталығы 4, тозандығы сары. Аналық сырға гүлдері жапырақсыз аяқшаларда 3-5-тен орналасқан, ұзындығы 12-15 мм, диаметрі 10 мм, қызғылт түсті. Жапырақтары пайда болғанша ерте көктемде (сәуір-мамыр) гүлдейді.

Тамыр жүйелері үстірт орналасады. Тамырларында түйнек бактериялары (*Schinzia alni*) түйнекшелер түзеді. Сондай-ақ, ылғал субстратта оның тамыр жүйесі ұсақ, қатты тарамдалған болып келеді. Тамыры *Frankia alni* эндофитті азоттаушы актиномицетпен симбиотикалық ассоциация құрады (Carmen 2014: 109). Топырақтағы азоттың және органикалық заттардың мөлшерін ұлғайта отырып, қасында өсетін өсімдіктердің өсуіне оң әсер етеді (Danel

1997: 375; Chartapaul 1989: 145). Қандыағаш қауымдастығында үнемі азот сүйгіш өсімдіктер өседі (мысалы, қалақай, таңқурай т.б.) (Бессчетнов 1981: 127). Халық медицинасында қолданылады. Көптеген Еуропалық мекен орталарында кейбір басым кластардың ішінде *Alnus glutinosa* басым және орман шаруашылығы үшін маңызды түр болып табылады (Rodrigues-Gonzales 2014: 233; Persson 2016: 149). Ол су жағалауы экосистемасына оң әсер ететін болғандықтан зерттеу үшін жоғары қызығушылық тудырады. Оның тамыр жүйесі су жағалауларының тұрақтандыруға оң әсер етеді, сондай-ақ экологиялық талаптары көлеңкеге төзімсіз және тек ылғалды жерлерде ғана өседі (Mingeot 2016: 24; Douda 2009: 712). Сонымен қатар, бұл түр орман және сүректік потенциалға ие, себебі биіктікке және диаметрінде тез өсу мүмкіндігіне ие (Kajba 2003: 1; Claessens 2015: 163). *Alnus glutinosa* түрінің жойылуы орман және топырақ құрамына, мекен ету ортасына кері әсер етуі және топырақ эрозиясына алып келуі мүмкін (Jose 2015: 539). Соңғы кездері *Alnus glutinosa* өсімдігінің саңырауқұлақ ауруына (*Phytophthora alni*) шалдығуы әсерінен өлуі Еуропаның көп бөлігінде азаюына алып келген (Mingeot 2016: 269). Жабысқақ қандыағаш еуропа ормандарында кең таралған түр және өндіріс биомассасы және сүрегі ретінде жоғары потенциалға ие болып табылады (Maixner 1999: 87; Байтенов 1986: 140). Жабысқақ қандыағаштың қабығы бояғыш зат ретінде пайдаланылады. Өңдеуіне байланысты маталарда (жүн және жібек) қара, сары және қызыл түстер береді және дәл сол түстерге былғарыны да өте жақсы бояйды (Павлов 1947: 127). *Alnus glutinosa* өсімдігін кесу, отын ретінде пайдалану және сырғалары мен бүрлерінен тұндырма дайындау үшін жинау оның санының азаюына алып келуде (Айпеисова 2011: 55; Айпеисова 2012: 43). Қазіргі таңда, еуропа ормандарында *Alnus glutinosa* қауымдастығын сақтап қалу үшін шаралар қолдану маңызды мәселелердің бірі болып табылады (Prieditis 1997: 49; Lall 2005: 347).

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеудің объектісі *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. болып табылады. Жұмыс барысында қауымдастыққа геоботаникалық сипаттама және флористикалық талдау жалпы қолданылып жүрген тәсілмен жүргізілді (Полевая геоботаника 1976: 320). Гербарий материалдарын жинау және кептіру А.К. Скворцов (Скворцов 1977: 199) бо-

йынша жүргізілді, өсімдікті анықтау барысында «Қазақстан флорасына» (Флора Казахстана 1961) және «Қазақстан өсімдіктерін иллюстративті анықтаушыға» (Иллюстрированный определитель растений Казахстана) сүйендік. Өсімдіктердің тізімдемесі С.А. Абдулина (Абдулина 1999: 187) және С.К. Черепанов (Черепанов 1995: 990) бойынша жасалынды.

Зерттеу нәтижелері мен оларды талқылау

Біздің зерттеуіміздің негізгі мақсаты Қазақстанның Қызыл кітабына енген, сирек кездесетін, реликт түр *Alnus glutinosa* популяциясының қазіргі кездегі жағдайына геоботаникалық тұрғыдан баға беру болып табылады. Осы мақсатта 2017 жылдың жазында Ақтөбе облысына арнайы экспедиция ұйымдастырылды. Іздестіру барысында *Alnus glutinosa* үш популяциясы табылып зерттелді. Бірінші популяция Ақтөбе облысы, Петропавловка селосы маңындағы Жаңатаң қыстағынан 2,5 км жерде табиғи ботаникалық ескерткіш ретінде мемлекетпен қорғауға алынған. GPS навигатор бойынша координаттары: N 50° 41' 16" и E 57° 24' 23". Екінші *Alnus glutinosa* популяциясы Ақтөбе облысы, Жаман Қарғалы өзені бойынан табылды. GPS навигатор бойынша координаттары: N 50° 20' 21" и E 57° 20' 39". Үшінші *Alnus glutinosa* популяциясы Ақтөбе облысы, Қарағаш селолық округі, Самбай ауылы маңындағы «Жансая» шаруа қожалығы жанынан табылды. GPS навигатор бойынша координаттары: N 49° 56' 14" и E 57° 5' 10".

Бірінші популяция қорғауға алынған қандыағаш тоғайы сайлы жерде орналасқан. Жер көлемі шамамен 1,5 га. Топырағы – жер асты суларының бастауы бар жердің қара топырағы болып табылады. Тоғайдың ортасында бұлақ жағалауы батпақтанған. Өсімдіктер жабыны қандыағашты – талды – қайыңды өсімдіктер қауымдастығынан тұрады (*Alnus glutinosa* – *Salix triandra*, *Salix pentandra* – *Betula pendula*). Өсімдіктер жабынының пайыздық көрсеткіші – 80-85%. Жер асты суы 1 метр ғана тереңдікте жатыр. Ал жер асты суы жақын батпақты жер *Alnus glutinosa* өсуіне аса қолайлы орта болып табылады. Өсімдіктер жабынында 5 ярус айқын байқалады. Бірінші ярусты *Alnus glutinosa* құрайды, биіктігі 18 м-ге дейін, екінші ярусты *Salix triandra*, *Salix pentandra*, *Betula pendula* түзеді, биіктігі 5-7 м, үшінші ярусты *Salix cinerea*, *Rosa pisiformis*, биіктігі 1,5-2 м, төртінші ярусты *Cirsium serrulatum*, *Inula helenium*, биіктігі 1 м-ге

дейін, бесінші ярусты *Urtica dioica*, *Chartolepis intermedia*, *Artemisia scoparia*, *Stipa capillata*, биіктігі 25-50 см түзеді.

Бірінші популяция шегінде 10 тұқымдасқа және 16 туысқа жататын жоғары сатыдағы өсімдіктердің 21 түрі анықталды. Қандыағаш тоғайында ағаштар мен бұталардан *Betula pendula*, *Salix triandra*, *Salix pentandra* негізгі орман құрушы түрлер болып табылады. Сай баурайына қарай шалғынды өсімдік жабынына ауысады. Шалғынды өсімдік жабынында *Urtica dioica* басым. Сонымен қатар, *Stipa capillata*, *Inula helenium*, *Artemisia scoparia*, *Cirsium serrulatum* шөптесін өсімдік жабынын құрайды. Бұлақ жағалауларын *Marschandia polymorpha* жапқан.

Систематикалық тұрғыдан бірінші популяцияда жоғары сатыдағы өсімдіктердің төрт бөлімінің өкілдері кездеседі. *Bryophyta* бөлімінен – *Marschandia polymorpha*, *Polypodiophyta* бөлімінен – *Thelypteris palustris*, *Dryopteris filix-mas*, *Equisetophyta* бөлімінен – *Equisetum arvense*, *Equisetum pratense*, *Equisetum hyemale* кездеседі. Қалған өсімдіктер *Magnoliophyta* бөлімінің өкілдері. Олардың *Monocotyledoneae* класына – *Stipa capillata*, қалған өсімдіктер *Magnoliopsidae* класына жатады. Түрлерінің саны жағынан *Asteraceae*, *Salicaceae*, *Equisetaceae* тұқымдастары басымдыққа ие. Қалған тұқымдастардан 1-2 түрден кездеседі.

Бірінші популяцияда тіршілік формасы бойынша анық басымдылықпен алдыңғы орында гемикриптофиттер, яғни көпжылдық шөптесін өсімдіктер – барлығы 11 түр (52,4 %). Екінші орында нано- және микрофанерофиттер, яғни бұта және жартылай бұталар – 5 түр (23,8 %). Үшінші орында макрофанерофиттер, яғни ағаштар – 3 түр (14,3 %). Төртінші орында терофиттер немесе біржылдық (сирек екіжылдық) өсімдіктер – 2 түр (9,5 %) тұр.

Екінші *Alnus glutinosa* популяциясы Ақтөбе облысы, Жаман Қарғалы өзені бойында орналасқан. Бұл популяция жер бедері жазықты болып келген, өзен жағалауында өсіп тұр. Өзен жер асты суларымен толығады. Жер көлемі шамамен 1 га құрайды. Топырағы дала зонасының күнгірт-сұр-қоңырлау түсті топырағы. Өсімдіктер жабыны теректі – қандыағашты – талды өсімдіктер қауымдастығынан тұрады (*Populus nigra* – *Alnus glutinosa* – *Salix triandra*, *Salix acutifolia*). Өсімдіктер жабынының пайыздық көрсеткіші – 60-65 %. Өсімдіктер жабынында 4 ярус айқын байқалады. Бірінші ярусты *Populus nigra* құрайды, биіктігі 21 метр, екінші ярусты *Alnus glutinosa*, *Acer tataricum*, *Acer negundo*,

Salix acutifolia, *Crataegus sanguinea* құрайды, биіктігі 6-8 метр, үшінші ярусты *Thalictrum minus*, *Rosa canina* түзеді, биіктігі 1-1,5 м, бесінші ярусты *Asparagus officinalis*, *Salvia stepposa*, *Artemisia vulgaris*, *Linaria genistifolia*, *Linaria ruthenica*, биіктігі 15-40 см.

Екінші популяция шегінде 18 тұқымдасқа және 23 туысқа жататын жоғары сатыдағы өсімдіктердің 31 түрі анықталды. Бұл популяцияда *Populus nigra*, *Salix triandra*, *Salix acutifolia*, *Fraxinus pennsylvanica* жақсы өсіп тұр. *Rhamnus cathartica*, *Acer tataricum*, *Lonicera tatarica* өсімдіктері де кездеседі. *Rosa canina*, *Artemisia proceriformis*, *Crataegus sanguinea* бұта және жартылай бұталары кездеседі. Шөптесін өсімдіктерден әсіресе *Dipsacus gmelinii*, *Calystegia sepium*, *Trifolium pratense*, *Crepis tectorum* көптеп кездеседі. Су жағалауларына жақын жерде *Thelypteris palustris* байқалады. Өзен аңғарының баурайын *Marschandia polymorpha* жапқан.

Систематикалық тұрғыдан екінші популяцияда да жоғары сатыдағы өсімдіктердің төрт бөлімінің өкілдері кездеседі. *Bryophyta* бөлімінен – *Marschandia polymorpha*, *Polypodiophyta* бөлімінен – *Thelypteris palustris*, *Equisetophyta* бөлімінен – *Equisetum hyemale* кездеседі. Қалған өсімдіктер *Magnoliophyta* бөліміне тиесілі. Оның ішінде *Monocotyledoneae* класынан – *Asparagus officinalis*, ал қалған өсімдіктер *Magnoliopsidae* класының өсімдіктері. Түрлерінің саны жағынан *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Salicaceae* тұқымдастары басымдыққа ие. Ал қалған тұқымдастардан 1-2 түрден кездеседі.

Екінші популяцияда тіршілік формасы бойынша анық басымдылықпен алдыңғы орында гемикриптофиттер, яғни көпжылдық шөптесін өсімдіктер – барлығы 15 түр (48,4 %). Екінші орында макрофанерофиттер, яғни ағаштар – 7 түр (22,6 %). Үшінші орында нано- және микрофанерофиттер, яғни бұта және жартылай бұталар – 6 түр (19,3 %). Төртінші орында терофиттер немесе біржылдық (сирек екіжылдық) өсімдіктер – 3 түр (9,7 %) тұр.

Үшінші *Alnus glutinosa* популяциясы Ақтөбе облысы, Қарағаш селолық округі, Самбай ауылы маңындағы «Жансая» шаруа қожалығы жанында қарашірікті топырақта өсіп тұр. Бұрын өрт шалған тоғай арасында *Alnus glutinosa* жас дарақтары бой көтерген. Жер көлемі шамамен 2,5-3 га. Өсімдіктер жабыны қандыағашты – қайыңды – талды өсімдіктер қауымдастығынан тұрады (*Alnus glutinosa* – *Betula pendula* – *Salix acutifolia*, *Salix pentandra*). Өсімдіктер жабынының пайыздық көрсеткіші – 75-80 %. Бірінші

ярусты *Alnus glutinosa* құрайды, биіктігі 16 м, екінші ярусты *Salix acutifolia*, *Salix pentandra*, биіктігі 8-10 метр, үшінші ярусты *Salix triandra*, *Betula pendula*, биіктігі 4-6 метр, төртінші ярусты *Calamagrostis epigeios*, *Inula helenium*, *Crepis rannonica*, биіктігі 1-1,5 метр, бесінші ярусты *Elytrigia repens*, *Rubus caesius*, *Chenopodium rubrum*, *Chenopodium glaucum*, *Bunium setaceum*, биіктігі 15-40 см құрайды.

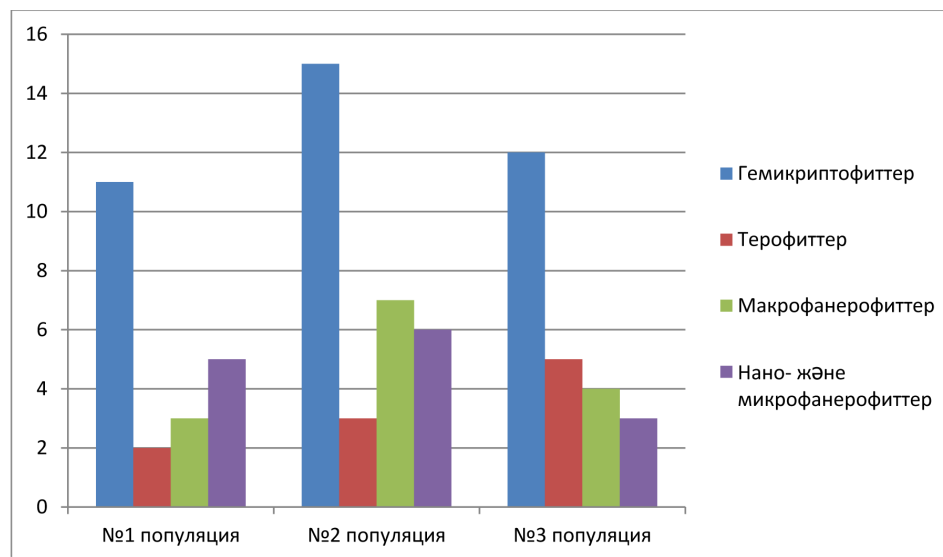
Үшінші популяция шегінде 14 тұқымдасқа және 21 туысқа жататын жоғары сатыдағы өсімдіктердің 24 түрі анықталды. Бұл популяция өсімдіктері өртенген орманның орнына қайта бой көтеріп өсіп тұр. Флоралық құрамы аса бай емес. Жабысқақ қандыағаш популяциясында *Betula pendula*, *Salix acutifolia*, *Salix pentandra* жақсы өсіп тұр. Сонымен қатар *Inula helenium*, *Polygonum acetosum*, *Rubus caesius*, *Verbascum marschallianum* өсімдіктер жабынын түзеді. Орман кіреберісінде *Calamagrostis epigeios*, *Elytrigia repens* өсіп тұр. Орманның кейбір сулы жерлерінде *Marschandia polymorpha* бірен-саран кездеседі.

Систематикалық тұрғыдан үшінші популяцияда да жоғары сатыдағы өсімдіктердің төрт бөлімінің өкілдері кездеседі. *Bryophyta* бөлімі-

нен – *Marschandia polymorpha*, *Polypodiophyta* бөлімінен – *Thelypteris palustris*, *Equisetophyta* бөлімінен – *Equisetum hyemale* өсімдіктері кездеседі. Ал қалған өсімдіктер *Magnoliophyta* бөлімінің өсімдіктері. Оның *Monocotyledoneae* класына – *Calamagrostis epigeios*, *Elytrigia repens* жатады, ал қалған өсімдіктер *Magnoliopsidae* класына тиесілі. *Asteraceae*, *Salicaceae*, *Chenopodiaceae* тұқымдастары түрлерінің саны жағынан басым, ал қалған тұқымдастардан 1-2 түрден кездеседі.

Үшінші популяцияда тіршілік формасы бойынша анық басымдылықпен алдыңғы орында гемикриптофиттер, яғни көпжылдық шөптесін өсімдіктер – барлығы 12 түр (50 %). Екінші орында терофиттер немесе біржылдық (сирек екіжылдық) өсімдіктер – 5 түр (20,8 %). Үшінші орында макрофанерофиттер, яғни ағаштар – 4 түр (16,7 %) тұр. Төртінші орында нано- және микрофанерофиттер, яғни бұта және жартылай бұталар – 3 түр (12,5 %).

Тіршілік формасы бойынша үш популяцияда да гемикриптофиттердің көрсеткіші жоғары. Терофиттердің саны бойынша үшінші популяция басым. Ал макрофанерофиттер және нано-, микрофанерофиттердің саны екінші популяцияда жоғары (1-сурет).



1-сурет – К. Раункиер бойынша үш популяция өсімдіктерінің тіршілік формаларының арақатынасы

Alnus glutinosa қатысуымен өсімдіктер қауымдастықтарының флоралық құрамы бойынша *Marchantiaceae* тұқымдасынан 1 түр үш популяцияда да кездеседі. *Polypodiaceae* тұқымдасынан бірінші популяцияда 2 түр, ал

қалған популяцияларда 1 түрден кездеседі. *Equisetaceae* тұқымдасынан бірінші популяцияда 3 түр, қалған популяцияларда 1 түрден кездеседі. *Poaceae* тұқымдасынан бірінші популяцияда 1 түр, үшінші популяцияда 2 түр

кездеседі. *Liliaceae* тұқымдасынан екінші популяцияда 1 ғана түр кездеседі. *Salicaceae* тұқымдасынан әр популяцияда 3 түрден кездеседі. *Betulaceae* тұқымдасынан бірінші және үшінші популяцияларда 2 түр, ал бірінші популяцияда 1 түр кездеседі. *Urticaceae* тұқымдасынан бірінші және үшінші популяцияда 1 түр кездеседі. *Polygonaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Chenopodiaceae* тұқымдасынан 2 түр, *Apiaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Plantaginaceae* тұқымдасынан 1 түр тек қана үшінші популяцияда кездеседі. *Ranunculaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Fabaceae* тұқымдасынан 3 түр, *Aceraceae*

тұқымдасынан 2 түр, *Oleaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Convolvulaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Lamiaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Caprifoliaceae* тұқымдасынан 1 түр, *Dipsacaceae* тұқымдасынан 1 түр тек екінші популяцияда ғана кездеседі. *Rosaceae* тұқымдасынан бірінші және екінші популяцияда 2 түр, үшінші популяцияда 1 түр кездеседі. *Rhamnaceae* тұқымдасынан бірінші және екінші популяцияда 1 түр кездеседі. *Asteraceae* тұқымдасынан бірінші популяцияда 5 түр, екінші популяцияда 7 түр, үшінші популяцияда 6 түр кездеседі. *Asteraceae* тұқымдасы үш популяцияда да доминантты (1-кесте).

1-кесте – *Alnus glutinosa* қатысуымен өсімдіктер қауымдастықтарының флоралық құрамы

№	Өсімдіктер тізімі	<i>Alnus glutinosa</i> популяциясы		
		№1 популяция (қ. Жаңатаң)	№2 популяция (Жаман Қарғалы өзені)	№3 популяция (с. Самбай, «Жансая» ш.қ.)
	Бөлім <i>Bryophyta</i>			
	Класс <i>Hepaticopsida</i>			
I	Тұқымдас: <i>Marchantiaceae</i> (Bisch.) Lindley – Маршанциялар тұқымдасы			
	Кәдімгі маршанция – <i>Marschandia polymorpha</i> L.	+	+	+
	Бөлім <i>Polypodiophyta</i>			
	Класс <i>Polypodiopsida</i>			
II	Тұқымдас: <i>Polypodiaceae</i> Bercht. & J. Presl – Кәдімгі папоротниктер тұқымдасы			
	Батпақты телиптирис – <i>Thelypteris palustris</i> Schott	+	+	+
	Еркек усасыр папоротник – <i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott	+		
	Бөлім <i>Equisetophyta</i>			
	Класс <i>Equisetopsida</i>			
III	Тұқымдас: <i>Equisetaceae</i> Rich. ex DC. – Қырықбуындар тұқымдасы			
	Дала қырықбуын – <i>Equisetum arvense</i> L.	+		
	Шалғын қырықбуын – <i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	+		
	Қыстық қырықбуын – <i>Equisetum hyemale</i> L.	+	+	+
	Бөлім <i>Magnoliophyta</i>			
	Класс <i>Monocotyledoneae</i>			
IV	Тұқымдас: <i>Poaceae</i> Barnhart – Астық немесе қоңырбастар тұқымдасы			
	Тырса (кылтаң селеу) қау – <i>Stipa capillata</i> L.	+		
	Құрғақ айрауық – <i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth			+
	Жатаған бидайық – <i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski			+

V	Тұқымдас: <i>Liliaceae</i> Juss. – Лалагүлдер тұқымдасы			
	Жабайы қасқыржем – <i>Asparagus officinalis</i> L.		+	
	Класс <i>Magnoliopsidae</i>			
VI	Тұқымдас: <i>Salicaceae</i> Mirb. – Талдар тұқымдасы			
	Қаратерек – <i>Populus nigra</i> L.		+	
	Қызылтал тал – <i>Salix acutifolia</i> Willd.		+	+
	Үшпәтталық тал – <i>Salix triandra</i> L.	+	+	+
	Қаракөк тал – <i>Salix pentandra</i> L.	+		+
	Құбашілік тал – <i>Salix cinerea</i> L.	+		
VII	Тұқымдас: <i>Betulaceae</i> S. F. Gray – Қайыңдар тұқымдасы			
	Қотыр қайың – <i>Betula pendula</i> Roth	+		+
	Жабысқақ қандыағаш – <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	+	+	+
VIII	Тұқымдас: <i>Urticaceae</i> Juss. – Қалақайлар тұқымдасы			
	Қосүйлі қалақай – <i>Urtica dioica</i> L.	+		+
IX	Тұқымдас: <i>Polygonaceae</i> Juss. – Тарандар тұқымдасы			
	Қышқыл таран – <i>Polygonum acetosum</i> Vieb.			+
X	Тұқымдас: <i>Chenopodiaceae</i> Vent. – Алабұталар тұқымдасы			
	Көкшіл алабұта – <i>Chenopodium glaucum</i> L.			+
	Қызыл алабұта – <i>Chenopodium rubrum</i> L.			+
XI	Тұқымдас: <i>Ranunculaceae</i> Juss. – Сарғалдақтар тұқымдасы			
	Айдар маралоты – <i>Thalictrum minus</i> L.		+	
XII	Тұқымдас: <i>Rosaceae</i> Juss. – Раушангүлдер тұқымдасы			
	Алқызыл долана – <i>Crataegus sanguinea</i> Pall.		+	
	Қарақат таңқурай – <i>Rubus caesius</i> L.			+
	Қотыр раушан – <i>Rosa laxa</i> Rez.	+		
	Қоңыр раушан – <i>Rosa pisiformis</i> (Christ.) Sosn.	+		
	Итмұрын раушан – <i>Rosa canina</i> L.		+	
XIII	Тұқымдас: <i>Fabaceae</i> Lindl. – Бұршақтар тұқымдасы			
	Қызылбас беде – <i>Trifolium pratense</i> L.		+	
	Бұта қараған – <i>Caragana frutex</i> (L.) C. Koch		+	
	Алагүл сиыржоңышқа – <i>Vicia biennis</i> L.		+	
XIV	Тұқымдас: <i>Aceraceae</i> Juss. – Үйеңкілер тұқымдасы			
	Америка үйеңкі – <i>Acer negundo</i> L.		+	
	Қара үйеңкі – <i>Acer tataricum</i> L.		+	
XV	Тұқымдас: <i>Rhamnaceae</i> Juss. – Қаражемістер тұқымдасы			
	Сынғақ итшомырт – <i>Frangula alnus</i> Mill.	+		
	Ішдәрі қаражеміс – <i>Rhamnus cathartica</i> L.		+	
XVI	Тұқымдас: <i>Apiaceae</i> Lindl. – Шатыршагүлдер тұқымдасы			

	Тікенді скалигерия – <i>Bunium setaceum</i> (Schrenk) H. Wolff			+
XVII	Тұқымдас: <i>Oleaceae</i> Hoffmgg. et Link – Зайтундар тұқымдасы			
	Пенсильван шаған – <i>Fraxinus pennsylvanica</i> Marsh.		+	
XVIII	Тұқымдас: <i>Convolvulaceae</i> Juss. – Шырмауықтар тұқымдасы			
	Арамшөп калистегия – <i>Calystegia sepium</i> (L.) R. Br.		+	
XIX	Тұқымдас: <i>Lamiaceae</i> Lindl. – Ерінгүлділер тұқымдасы			
	Дала шалфей – <i>Salvia stepposa</i> Shost.		+	
XX	Тұқымдас: <i>Scrophulariaceae</i> Juss. – Сабынкөктер тұқымдасы			
	Шығыс аюқұлақ – <i>Verbascum marschallianum</i> Ivanina et Trvel.			+
	Таспажапырақ сиякөк – <i>Linaria genistifolia</i> (L.) Mill.		+	
	Орыс сиякөк – <i>Linaria ruthenica</i> Blonski		+	
XXI	Тұқымдас: <i>Plantaginaceae</i> Juss. – Бақажапырақтар тұқымдасы			
	Үлкен бақажапырақ – <i>Plantago major</i> L.			+
XXII	Тұқымдас: <i>Caprifoliaceae</i> Juss. – Ұшқаттар тұқымдасы			
	Татар ұшқат – <i>Lonicera tatarica</i> L.		+	
XXIII	Тұқымдас: <i>Dipsacaceae</i> Juss. – Қожакендірлер тұқымдасы			
	Гмелин қожакендір – <i>Dipsacus gmelinii</i> Bieb.		+	
XXIV	Тұқымдас: <i>Asteraceae</i> Dumort. – Күрделігүлділер тұқымдасы			
	Канада майдажелек – <i>Conyza Canadensis</i> (L.) Cronq.			+
	Биік андыз – <i>Inula helenium</i> L.	+		+
	Шеміршек мыңжапырақ – <i>Ptarmica cartilaginea</i> (Ledeb. ex Reichenb.) Ledeb.			+
	Кәдімгі мыңжапырақ – <i>Achillea millefolium</i> L.			+
	Биік жусан – <i>Artemisia abrotanum</i> L.			+
	Бұта жусан – <i>Artemisia proceriformis</i> Krasch.		+	
	Ермен жусан – <i>Artemisia vulgaris</i> L.		+	
	Австрия жусан – <i>Artemisia austriaca</i> Jacq.		+	
	Шашақты жусан – <i>Artemisia scoparia</i> Waldst. et Kit.	+		
	Шыралжын жусан – <i>Artemisia dracunculus</i> L.		+	
	Құм жусан – <i>Artemisia arenaria</i> DC.		+	
	Жалған ақбақай – <i>Petasites spurius</i> (Retz.) Reichenb.	+		
	Ұсактік сарықалуен – <i>Cirsium serrulatum</i> (Bieb.) Fisch.	+		
	Орта хартолепис – <i>Chartolepis intermedia</i> Boiss.	+		
	Кәдімгі цикорий – <i>Cichorium intybus</i> L.		+	
	Мадьяр кәді – <i>Crepis pannonica</i> (Jacq.) C. Koch.			+
	Жаппа кәді – <i>Crepis tectorum</i> L.		+	

Қорытынды

Alnus glutinosa популяциясы өсімдіктерінің тіршілік формасы бойынша зерттеу нәтижесінде, көпжылдық шөптесін өсімдіктер екінші популяцияда доминантты, үшінші популяцияда бірінші популяцияға қарағанда жоғары. Ағаштар екінші популяцияда доминантты, ал үшінші популяцияда бірінші популяцияға қарағанда жоғары. Терофиттер үшінші популяцияда басым болғанымен бұл популяцияда бұта және жартылай бұталар басқа популяцияларға

қарағанда рецессивті, ал бірінші популяцияда бұта және жартылай бұталар көрсеткіші екінші популяциядан кейінгі екінші орында тұр.

Alnus glutinosa популяцияларының флоралық құрамына талдау нәтижесі үш популяцияда *Asteraceae* тұқымдасының түрлер саны 5-7 доминантты болып келеді. Екінші популяцияда 17 тұқымдасқа кіретін түрлер болса, үшінші популяцияда 14 тұқымдас түрлері, ал бірінші популяцияда 10 тұқымдас өсімдіктері кездесетіндігі айқындалды, соның ішінде 6 тұқымдас түрлері 3 популяцияда да кездеседі.

Әдебиеттер

- 1 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы, 1999. – 187 с.
- 2 Айпеисова С.А. Конспект флоры Актюбинского флористического округа. – Актобе, 2012. – 43 с.
- 3 Айпеисова С.А. Редкие и исчезающие растения Актюбинской области. – Актобе, 2011. – 55-56 с.
- 4 Байтенов М.С. В мире редких растений. – Алма-Ата: «Қайнар», 1986. – 140-141 с.
- 5 Бессчетнов П.П., Мальцев С.Н. Редкие и ценные растения Казахстана. – Алма-Ата: «Қайнар», 1981. – 127-128 с.
- 6 Иллюстрированный определитель растений Казахстана. – Алма-Ата, 1969. – Т. 1-2.
- 7 Красная книга Казахстана / под ред. И.О. Байтулин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Астана: ТОО «Art PrintXXI», 2014. – Т.2. – 90 с.
- 8 Красная книга Казахской ССР. Часть 2. Растения. – Алма-Ата: Наука, 1981. – 52-53 с.
- 9 Павлов Н.В. Растительное сырье Казахстана. – М.: АН СССР, 1947. – 127-128 с.
- 10 Павлов Н.В. Растительное сырье Казахстана (Растения: их вещества и использование). – Ленинград: изд-во АН СССР. – 1947. – 552 с.
- 11 Полевая геоботаника. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1976. – Т.5. – 320 с.
- 12 Скворцов А.К. Гербарий. Пособие по методике и технике. – М.: Наука, 1977. – 199 с.
- 13 Тахтаджян А.Л. Жизнь растений: в 6 т. – М.: «ПРОСВЕЩЕНИЕ», 1980. – Т.5(1). – 311-324 с.
- 14 Флора Казахстана: в 9 т. Байтенов М.Б., [и др.]; под ред Н.В. Павлов. – Алма-Ата: АН Каз ССР, 1961. – Т.3. – 66 с.
- 15 Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. – СПб., 1995. – 990 с.
- 16 Carmen San Jose E., Silvia Valladares, Laura V., Janeiro, E. Corredoira. Cryopreservation of in vitro – grown shoot tips of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // *Acta Physiol Plant.* – 2014. – №36. – P. 109-116.
- 17 Chartapaul L., Chakravarty P., Subramaniam P. Studies in tetrapartite symbioses. 1. Role of ecto and endo mycorrhizal fungi on the growth performance of *Alnus incana* // *Plant Soil.* – 1989. – №118. – P. 145-150.
- 18 Claessens H., Oosterbaan A., Savill P., Rondeux J. A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices // *Forestry.* – 2010. – №83. – P. 163-175.
- 19 Lamote R.S. Catalogue of the cenozoia plants of north America through 1950 // *Oaklan, Colifornia.* – 1953. – P. 381.
- 20 Danel Huss. K. Actinorhizal symbioses and their N₂ fixation. // *New Phytol.* – 1997. – №136. – P. 375-405.
- 21 Douda Jan, Alžbeta CejkoV', Karel Douda, Jana Koch'ankov'a. Development of alder carr after the abandonment of wet grasslands during the last 70 years // *Ann. For. Sci.* – 2009. – №66 – P. 712.
- 22 Jose San M.C., L.V. Janeiro, E. Carredoira. Simple strategy for the in vitro conservation of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. germplasm // *Trees.* – 2015. – №29. – P. 539-549.
- 23 Kajba D., Gracan J. EUFORGEN technical guidelines for genetic conservation and use for black alder (*Alnus glutinosa*). // *International Plant Genetic Resources Institute.* – Rome, Italy. – 2003. – P. 1-4.
- 24 Lall S., Z. Mandegaran, A.V. Roberts. Shoot multiplication in cultures of mature *Alnus glutinosa* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* – 2005. – №83. – P. 347-350.
- 25 Maixner M., W. Reinert. *Oncopsis alni* (Schrank) (Auchenorrhyncha: Cicadellidae) as a vector of the alder yellows phytoplasma of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // *European Journal of Plant Pathology.* – 1999. – №105. – P. 87-97.
- 26 Mingeot Dominique, Claude Husson, P. Mertens, B. Watillon, P. Bertin, P. Druart. Genetic diversity and genetic structure of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) in the Belgium – Luxembourg – France cross-border area // *Tree Genetics & Genomes.* – 2016. – №12. – P. 24.
- 27 Mingeot Dominique, R. Baleux, B. Watillon. Characterization of microsatellite markers for black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) // *Conservation Genet Resour.* – 2016 – №2. – P. 269-271.
- 28 Persson Tomas, T. Van Nguyen, N.Alloisio, P. Pujic, A.M. Berry, P. Normand, K. Pawlowski. The N-metabolites of roots and actinorhizal nodules from *Alnus glutinosa* and *Datisca glomerata*: can *D. glomerata* change N-transport forms when nodulated? // *Symbiosis.* – 2016. – №70. – P. 149-157.
- 29 Prieditis Normunds. *Alnus glutinosa* – dominated wetland forests of the Baltic Region: community structure, syntaxonomy and conservation // *Plant Ecology.* – 1997. – №129. – P. 49-94.
- 30 Rodriguez-Gonzalez P.M., F. Campelo, A. Albuquerque. Sensitivity of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth to hydrological changes in wetland forests at the rear edge of the species distributon // *Plant ecology.* – 2014. – №215. – P. 233-245.

References

- 1 Abdulina S.A. (1999) Spisok sosudistyh rastenij Kazahstana [List of vascular plants of Kazakhstan]. Almaty, pp. 187.
- 2 Ajepeisova S.A. (2012) Konspekt flory Aktyubinskogo floristicheskogo okruga [Abstract of the flora of the Aktobe floristic district]. Aktobe, pp. 43.
- 3 Ajepeisova S.A. (2011) Redkie i ischezayushchie rasteniya Aktyubinskoj oblasti [Rare and endangered plants of the Aktyubinsk region]. Aktobe, pp. 55-56.
- 4 Bajtenov M.S. (1986) V mire redkih rastenij [In the world of rare plants]. Alma-ata: «Kajnar», pp. 140-141.
- 5 Bajtenov M. B., ed. N.V. Pavlov (1961) Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. Alma-Ata vol. 3, pp. 66.
- 6 Besschetnov P.P., Mal'cev S.N. (1981) Redkie i cennye rasteniya Kazahstana [Rare and valuable plants of Kazakhstan]. Alma-ata: «Kajnar», pp. 127-128.
- 7 Carmen San Jose E., Silvia Valladares, Laura V., Janeiro, E. Corredoira, "Cryopreservation of in vitro – grown shoot tips of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.," *Acta Physiol Plant* 36 (2014): 109-116.
- 8 Chartapaul L., Chakravarty P., Subramaniam P., "Studies in tetrapartite symbioses. 1. Role of ecto and endo mycorrhizal fungi on the growth performance of *Alnus incana*," *Plant Soil* 118 (1989): 145-150.
- 9 Cherepanov S.K. (1995) Sosudistye rasteniya Rossii i sopedel'nyh gosudarstv [Vascular plants of Russia and neighboring countries]. SPb., pp. 990.
- 10 Claessens H., Oosterbaan A., Savill P, Rondeux J., "A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices," *Forestry* 83 (2010): 163-175.
- 11 Danel Huss K., "Actinorhizal symbioses and their N₂ fixation," *New Phytol* 136 (1997): 375-405.
- 12 Douda Jan, Alžbeta Cejkov', Karel Douda, Jana Koch'ankov'a., "Development of alder carr after the abandonment of wet grasslands during the last 70 years," *Ann. For. Sci.* 66 (2009): 712.
- 13 Jose San M.C., L.V. Janeiro, E. Carredoira, "Simple strategy for the in vitro conservation of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Germplasm," *Trees* 29 (2015): 539-549.
- 14 Illyustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana [Illustrated determinant of plants in Kazakhstan]. (1969) Alma-Ata, vol. 1-2.
- 15 Kajba D., Gracan J., "EUFORGEN technical guidelines for genetic conservation and use for black alder (*Alnus glutinosa*)," *International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy* (2003): 1-4.
- 16 Krasnaja kniga Kazahstana [Red List of Kazakhstan] vol. 2, Astana: Art Print XXI, pp. 90.
- 17 Krasnaja kniga Kazahskoj SSR [The Red Data Book of Kazakh SSR]. (1981) Alma-Ata: Nauka, pp. 52-53.
- 18 Lall S., Z. Mandegaran, A.V. Roberts, "Shoot multiplication in cultures of mature *Alnus glutinosa*," *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 83 (2005): 347-350.
- 19 Lamote R.S., "Catalogue of the cenozoia plants of north America through 1950," *Oaklan, Colifornia* (1953): 381.
- 20 Maixner M., W. Reinert, "Oncopsis alni (Schrank) (Auchenorrhyncha: Cicadellidae) as a vector of the alder yellows phytoplasma of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.," *European Journal of Plant Pathology* 105 (1999): 87-97.
- 21 Mingeot Dominique, Claude Husson, P. Mertens, B. Watillon, P. Bertin, P. Druart., "Genetic diversity and genetic structure of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) in the Belgium – Luxembourg – France cross-border area," *Tree Genetics & Genomes* 12 (2016): 24.
- 22 Mingeot Dominique, R. Baleux, B. Watillon, "Characterization of microsatellite markers for black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.)," *Conservation Genet Resour* 2 (2016): 269-271.
- 23 Pavlov N.V. (1947) Rastitel'noe syr'e Kazahstana [Vegetable raw materials of Kazakhstan]. Moskva: AN SSSR, pp. 127-128.
- 24 Pavlov N.V. (1947) Rastitel'noe syr'e Kazahstana (Rasteniya: ih veshchestva i ispol'zovanie) [Vegetable raw materials of Kazakhstan (Plants: their substances and use)]. Leningrad: izd-vo AN SSSR, pp. 552.
- 25 Persson Tomas, T. Van Nguyen, N. Alloisio, P. Pujic, A.M. Berry, P. Normand, K. Pawlowski, "The N-metabolites of roots and actinorhizal nodules from *Alnus glutinosa* and *Datisca glomerata*: can *D. glomerata* change N-transport forms when nodulated?," *Symbiosis* 70 (2016): 149-157.
- 26 Polevaya geobotanika [Field geobotany]. (1976) M.L.: Izd-vo AN SSSR, vol. 5, pp. 320
- 27 Prieditis Normunds, "Alnus glutinosa – dominated wetland forests of the Baltic Region: community structure, syntaxonomy and conservation," *Plant Ecology* 129 (1997): 49-94.
- 28 Rodriguez-Gonzalez P.M., F. Campelo, A. Albuquerque, "Sensitivity of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth to hydrological changes in wetland forests at the rear edge of the species distributon," *Plant ecology* 215 (2014): 233-245.
- 29 Skvorcov A.K. (1977) Gerbarij. Posobie po metodike i tekhnike [Herbarium. Manual on Techniques and Techniques]. M.: Nauka, pp. 199.
- 30 Tahtadzhyan A.L. (1980) ZHizn' rastenij: v 6 t [Life of plants: in six volumes]. Moskva «PROSVESHCHENIE», vol. 5(1), pp. 311-324.

МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

Шолу мақалалары

Обзорные статьи

<i>Aytasheva Z.G., Zhumabayeva B.A., Dzhangalina E.D., Rakhimberdi Q., Shamshadin D.</i> Challenges of Ongoing Cucurbits Research and Farm Gating	4
1-бөлім Қоршаған ортаны қорғау және қоршаған ортаға антропогендік факторлардың әсері	Раздел 1 Воздействие на окружающую среду антропогенных факторов и защита окружающей среды
<i>Baktybayeva L.K., Tauassarova M.K., Berlin Kenneth Darrell, Yu V.K., Zazybin A.G., Malmakova A.E.</i> Myelostimulating activity of piperidine compounds BIV-68, BIV-69, BIV-70, BIV-71	24
<i>Pavlichenko L.M., Rysmagambetova A.A., Rodrigo Ilarri J.</i> The applicability assessment of technical solutions for a feasibility study on the purification of groundwater in the Ilek river valley from boron for the modern hydro geochemical situation	35
<i>Текебаева Ж.Б., Абжалелов А.Б.</i> Роль водорослей-индикаторов в оценке загрязнения водоемов Северного Казахстана	49
2-бөлім Қоршаған орта ластаушыларының биотаға және тұрғындар деңсаулығына әсерін бағалау	Раздел 2 Оценка действия загрязнителей окружающей среды на биоту и здоровье населения
<i>Бурашев Е.Д., Султанкулова К.Т., Кожабергенов Н.С., Садикалиева С.О., Орынбаев М.Б., Сандыбаев Н.Т., Зайцев В.Л.</i> Морфометрия и некоторые физические характеристики вируса гриппа лошадей, выделенных на территории Республики Казахстан.....	62
<i>Kolumbayeva S.Zh., Lovinskaya A.V., Abilev S.K., Voronova N.</i> The Experimental Study Of The Mutagenic Action Of N-Nitrosodimethylamine In Mice	71
<i>Мукашева Т.Д., Бержанова Р.Ж., Дюсенов О., Омирбекова А., Жандос И., Алибекова А., Капан А.</i> Оценка эффективности биоремедиации препаратом «Мико-Ойл» замасуоченного грунта и нефтешлама (в полевых условиях)	80
3-бөлім Биологиялық алуантүрлікті сақтаудың өзекті мәселелері	Раздел 3 Актуальные проблемы сохранения биологического разнообразия
<i>Бражникова Е.В., Мукашева Т.Д., Игнатова Л.В.</i> Таксономическая структура микромицетных сообществ почв под посевами сельскохозяйственных культур	92
<i>Дуйсенбаева У., Терлецкая Н., Курманбаева М.</i> Влияние солевого стресса на ростовые реакции проростков нута (<i>Cicer arietinum L.</i>)	101
<i>Картбаева Г.Т., Абуkenова В.С.</i> Экомониторинговые исследования Chlamydotis masqueenii на заповедных территориях в 2017 г.	110
<i>Сайлаубаева М., Атамбаева Ш.А., Ниязова Р.Е.</i> Гены и miRNA, ответственные за репродуктивность сельскохозяйственных животных	121
<i>Саржігітова А., Курманбаева М., Базарғалиева А.</i> <i>Alnus glutinosa (L.) gaertn</i> сирек түр өсімдіктер қауымдастықтарының геоботаникалық сипаттамасы	134

CONTENTS

Review articles

- Aytasheva Z.G., Zhumabayeva B.A., Dzhangalina E.D., Rakhimberdi Q., Shamshadin D.*
Challenges of Ongoing Cucurbits Research and Farm Gating 4

Section 1

Environmental impact of anthropogenic factors and environmental protection

- Baktybayeva L.K., Tauassarova M.K., Berlin Kenneth Darrell, Yu V.K., Zazybin A.G., Malmakova A.E.*
Myelostimulating activity of piperidine compounds BIV-68, BIV-69, BIV-70, BIV-71 24

- Pavlichenko L.M., Rysmagambetova A.A., Rodrigo Ilarri J.*
The applicability assessment of technical solutions for a feasibility study
on the purification of groundwater in the Ilek river valley from boron for the
modern hydro geochemical situation 35

- Tekebaeva Zh.B., Abzhalelov A.B.*
Research of algae-indicators in the assessment of pollution of water bodies in Northern Kazakhstan 49

Section 2

Assessment of environmental pollution on biota and health

- Burashev Y.D., Sultankulova K.T., Kozhabergenov N.S., Sadikalieva S.O.,
Orynbayev M.B., Sandybayev N.T., Zaitsev V.L.*
Morphometry and some physical characteristics of the equine influenza virus isolated
in the territory of the Republic of Kazakhstan 62

- Kolumbayeva S.Zh., Lovinskaya A.V., Abilev S.K., Voronova N.*
The Experimental Study Of The Mutagenic Action Of N-Nitrosodimethylamine In Mice 71

- Mukasheva T., Berzhanova R., Dyusenov O., Omirbekova A., Imanbekov Zh., Alibekova A., Kapan A.*
Evaluation Of The Effectiveness of Bioremediation of Oil Contaminated
Soil and Sludge Using “Myco-Oil” Product (Under Field Conditions) 80

Section 3

Actual problems of biodiversity conservation

- Brazhnikova Y.V., Mukasheva T.D., Ignatova L.V.*
The taxonomical structure of micromycetes communities of soils planted with agricultural crops 92

- Duisenbayeva U., Terletskaya N., Kurmanbayeva M.*
Affect of salt stress on the growth reactions of the chickpea seedlings (*Cicer arietinum* L.) 101

- Kartbayeva G.T., Abukenova B.C.*
Ecomonitoring researches of *Chlamydotis Macqueenii* in reserved zone in 2017 110

- Sailaubayeva M., Atambayeva Sh.A., Niyazova R.E.*
Genes and microRNAs are associated with the productivity of farm animals 121

- Sarzhigitova A., Kurmanbayeva M., Bazargaliyeva A.*
Geobotanical characteristics of plant communities with
participation of rare species *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. 134

УСПЕЙТЕ ПОДПИСАТЬСЯ НА СВОЙ ЖУРНАЛ

АКЦИЯ!!!

**Каждому подписчику
ПУБЛИКАЦИЯ СТАТЬИ
БЕСПЛАТНО!!!**

- Акция действительна при наличии квитанции об оплате годовой подписки.
- Статья должна соответствовать требованиям размещения публикации в журнале.
- Статья печатается в той серии журнала, на которую подписался автор.
- Все нюансы, связанные с публикацией статьи, обсуждаются с ответственным секретарем журнала.

Издательский дом
«Қазақ университеті»
г. Алматы,
пр. аль-Фараби, 71
8 (727) 377 34 11, 221 14 65

АО «КАЗПОЧТА»
г. Алматы,
ул. Богенбай батыра, 134
8 (727 2) 61 61 12

ТОО «Евразия пресс»
г. Алматы,
ул. Жибек Жолы, 6/2
8 (727) 382 25 11

ТОО «Эврика-пресс»
г. Алматы,
ул. Кожамкулова, 124, оф. 47
8 (727) 233 76 19, 233 78 50