

ISSN 1563-034X; eISSN 2617-7358

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

---

№3 (64)

Алматы  
«Қазақ университеті»  
2020



# ХАБАРШЫ

ЭКОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ №3 (64) қыркүйек



04. 05. 2017 ж. Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникация министрлігінде тіркелген

Қуәлік № 16501-Ж

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады  
(наурыз, маусым, қыркүйек, желтоқсан)

## 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 академигі, (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.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

**Садырова Г.А.**, б.ғ.д., профессор (Қазақстан)

**Баубекова А.С.**, б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

**Мамилов Н.Ш.**, б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

**Инелова З.А.**, б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

**Кушнарченко С.В.**, б.ғ.к., доцент (Қазақстан)

**Абилев С.К.**, б.ғ.д., профессор (Ресей)

**Дигель И.**, PhD докторы, профессор (Германия)

**Маторин Д.**, б.ғ.д., профессор (Ресей)

**Рахман Е.**, PhD докторы, профессор (Қытай)

**Тамо Тацуя**, PhD докторы, профессор (Жапония)

**Аллахвердиев Сулейман**, PhD (Ресей)

**Каримов Б.**, б.ғ.д., профессор (Өзбекстан)

## ТЕХНИКАЛЫҚ ХАТШЫ

**Салмұрзаұлы Р.**, аға 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.



Министерство образования и науки  
Республики Казахстан  
Официальный интернет-ресурс  
Комитета по контролю в сфере  
образования и науки



РОССИЙСКИЙ ИНДЕКС  
НАУЧНОГО ЦИТИРОВАНИЯ  
Science Index



## Ғылыми басылымдар бөлімінің басшысы

Гульмира Шаккозова

Телефон: +7 701 724 2911

E-mail: Gulmira.Shakkozova@kaznu.kz

## Редакторлары:

Гульмира Бекбердиева

Агила Хасанқызы

## Компьютерде беттеген

Айгүл Алдашева

## ИБ № 13828

Пішімі 60x84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Көлемі 9,5 б.т. Тапсырыс № 11512.

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, 2020

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

---

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

---

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

**B.D. Kossalbayev** , **B.K. Zayadan** , **A.K. Sadvakasova** ,  
**K. Bolatkhan\*** , **A. Token** , **Storay Wefag** 

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty,  
\*e-mail: zbolatkhan@gmail.com

## STUDY OF THE EFFECT OF NITROGEN-FIXING CYANOBACTERIA ON THE GROWTH RATE OF THE *STRAWBERRY SUNRISE T-4* STRAWBERRY VARIETY

The article presents the results of the study of nitrogenase activity of five strains of cyanobacteria from the collection of phototrophic microorganisms of Al-Farabi Kazakh National University and their effect on the growth of strawberries. Nitrogen-fixing cyanobacteria were studied by strains *Anabaena variabilis* R-I-5, *Anabaena* sp. 7912, *Anabaena* sp. Z-1, *Nostoc caldicola* RI-3, *Nostoc* sp. S-2, and according to the results obtained high activity of nitrogenase in the strain *Anabaena variabilis* R-I-5. In the study of the effect of cells of different concentrations of the strain *Anabaena variabilis* R-I-5 on the growth of strawberry *Strawberry Sunrise T-4*, it was found that its suspension of  $24 \times 10^6$  cells/ml and  $48 \times 10^6$  cell/ml had a positive effect on strawberry growth. In addition, an increase in the number of strawberry roots was observed in the suspension of cyanobacterial biomass  $24 \times 10^6$  cell/ml. An increase in the number of strawberry leaves, root length, stem height and a significantly higher yield of dry biomass of strawberries were observed in the suspension of the study in the amount of  $48 \times 10^6$  cell/ml. The optimal cell count of the nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena variabilis* R-I-5 suspension, which has a positive effect on the growth of strawberry plants, was  $48 \times 10^6$  cell/ml. The obtained results allow to use the nitrogen fixing strain *Anabaena variabilis* R-I-5 for obtaining biological products in agrobiotechnology.

**Key words:** Nitrogen-fixing cyanobacteria strains, grow of *Strawberry Sunrise T-4* variety, molecular nitrogen absorption in air.

Б.Д. Қосалбаев, Б.Қ. Заядан, А.К. Садвакасова,  
К. Болатхан\*, А. Төкен, Сторай Уефак

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.,  
\*e-mail: zbolatkhan@gmail.com

### Құлпынайдың *Strawberry Sunrise T-4* сортының өсу көрсеткіштеріне азот фиксациялаушы цианобактерияның әсерін зерттеу

Мақалада әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің фототрофты микроорганизмдер коллекциясынан алынған цианобактерияның бес штаммының нитрогеназа белсенділігі және олардың құлпынайдың өсу көрсеткіштеріне тигізетін әсерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Азотфиксациялаушы цианобактериялар *Anabaena variabilis* R-I-5, *Anabaena* sp. 7912, *Anabaena* sp. Z-1, *Nostoc caldicola* RI-3, *Nostoc* sp. S-2 штамдарымен зерттеу жүргізілді және алынған нәтижелерге сәйкес *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммында нитрогеназаның жоғары белсенділігі тіркелді. *Anabaena variabilis* R-I-5 штаммының әртүрлі концентрациядағы клеткаларының құлпынай *Strawberry Sunrise T-4* сортының өсуіне әсерін зерттеген тәжірибеде, оның  $24 \times 10^6$  клетка (к/л)/мл және  $48 \times 10^6$  к/л/мл суспензиясы құлпынайдың өсу көрсеткіштеріне оң әсерін беретіндігі анықталды. Сонымен қатар, цианобактерия биомассасының  $24 \times 10^6$  к/л/мл суспензиясында құлпынай тамырларының санының өсуі байқалды. Зерттеудің  $48 \times 10^6$  к/л/мл мөлшердегі суспензиясында құлпынай жапырақтарының санының көбеюі, тамырдың ұзындығының өсуі, сабақтарының биіктігі тіркелді және құлпынайдың құрғақ биомассасының шығымы едәуір жоғары болғаны анықталды. Құлпынай өсімдігінің өсуіне оң әсер ететін азот фиксациялаушы цианобактерия *Anabaena variabilis* R-I-5 суспензиясының ең оңтайлы клетка саны  $48 \times 10^6$  к/л/мл болды. Алынған нәтижелер *Anabaena variabilis* R-I-5 азот фиксациялайтын штаммын агроботехнологияда биологиялық өнім алу үшін қолдануға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** азотфиксациялаушы цианобактерия штамдары, *Strawberry Sunrise T-4* сортының өсуі, ауадағы молекулалық азотты сіңіру.

Б.Д. Косалбаев, Б.К. Заядан, А.К. Садвакасова,  
К. Болатхан\*, А. Токен, Сторай Уефак

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы,  
\*e-mail: zbolatkhan@gmail.com

### Изучение влияния азотфиксирующих цианобактерий на показатели роста сорта клубники *Strawberry Sunrise T-4*

В статье представлены результаты исследования КазНУ им. аль-Фараби по нитрогеназной активности пяти штаммов цианобактерий из коллекции фототрофных микроорганизмов и их влиянию на рост земляники. Азотфиксирующие цианобактерии исследовали на штаммах *Anabaena variabilis R-I-5*, *Anabaena sp. 7912*, *Anabaena sp. Z-1*, *Nostoc calicicola RI-3*, *Nostoc sp. S-2* и по результатам получили высокую активность нитрогеназы в штамме *Anabaena variabilis R-I-5*. При изучении влияния клеток штамма *Anabaena variabilis R-I-5* с разной концентрацией на рост клубники *Strawberry Sunrise T-4* было обнаружено, что его суспензия, содержащая  $24 \times 10^6$  клеток (кл)/мл и  $48 \times 10^6$  кл/мл, оказывает положительное влияние на рост клубники. Кроме того, увеличение количества корней клубники наблюдалось в суспензии биомассы цианобактерий  $24 \times 10^6$  кл/мл. Увеличение количества листьев клубники, длины корня, высоты стебля и значительно более высокий выход сухой биомассы клубники наблюдали в суспензии в количестве  $48 \times 10^6$  кл/мл. Оптимальное количество клеток в суспензии азотфиксирующей цианобактерии *Anabaena variabilis R-I-5*, которая положительно влияет на рост растений клубники, составляло  $48 \times 10^6$  кл/мл. Полученные результаты позволяют использовать азотфиксирующий штамм *Anabaena variabilis R-I-5* для получения биопрепаратов в агробиотехнологии.

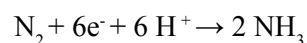
**Ключевые слова:** азотфиксирующие штаммы цианобактерий, рост сорта *Strawberry Sunrise T-4*, поглощение молекулярного азота на воздухе.

## Introduction

Intensive cultivation of agricultural crops in the country has led to a decrease in soil fertility due to a lack of organic and mineral fertilizers, including nitrogen. According to soil scientists in Kazakhstan, 60% of the country's soil cover is subject to soil erosion. Over the past 20-40 years, the loss of the humus layer amounted to 8-30%, which became the basis of soil fertility, including a decrease in the most valuable humic acids and hydrolyzed nitrogen 45% and 48% respectively. Nitrogen is known to be one of the most important nutrients for plants. Nitrogen makes up 1-5% of their dry biomass and is an important component of chemical processes. Crop yields in different agricultural regions are often closely linked to soil nitrogen reserves. The capacity of biological nitrogen is three times higher than that of chemical nitrogen introduced as a fertilizer. Therefore, the current issue is to carry out concrete work to restore the soil. On this basis, it is important to replace the traditionally used chemical fertilizers with biofertilizers that produced from/by biological objects. Molecular nitrogen in the air helps to prevent soil erosion and provides plants with a normal amount of nitrogen absorbed on the basis of biological processes [1].

The amount of nitrogen in the soil depends on the intensity of microorganisms that fix  $N_2$  in the air. Among them, nitrogen-fixing bacteria (azotobacteria) and cyanobacteria play a leading role in

the formation of nitrogen in the air. Some species of cyanobacteria are able to fix atmospheric nitrogen in the absence of nitrogen in the environment. They use special cells called heterocysts to produce nitrogen [2]. Some heterocystic species produce high levels of nitrogen in the air, while some species have relatively low nitrogen consumption. All of them are similar in terms of biochemical mechanisms of fixation of molecular nitrogen. It is based on the process of reduction of  $N_2$  which follows the following equation:



In the cell, this reaction takes place in the presence of the enzyme nitrogenase, which is present in the inner membrane of the cell.

The amount of nitrogen fixed and consumed from the air is directly related to the activity of the enzyme nitrogenase in the species of cyanobacteria. Among cyanobacteria, heterocystic forms absorb nitrogen from the air and distribute it in the soil. It is known that the soil is the habitat of underground nitrogen-fixing microorganisms. Strains of cyanobacteria in the soil fix atmospheric nitrogen, bind soil particles together and help retain moisture and prevent erosion. In addition, nitrogen-fixing cyanobacteria increase the content of micro- and macronutrients in the soil and increase the supply of important plant growth hormones – phytohormones [3, 4].

In addition, the biomass of cyanobacteria is rich in amino acids and vitamins, which in turn are important chemical compounds necessary for plants [5,6,7,8]. Active cyanobacteria for nitrogen fixation are potential microorganisms that are suitable for the replacement of traditionally used chemical fertilizers [9,10]. The effect of nitrogen-fixing cyanobacteria is beneficial for crops such as wheat, strawberries, soybeans, oats, radishes, cotton, sugar cane, corn, chili, peas, tomatoes [11, 12]. Righini *et al.* (2018) proved in his study that the biomass of microalgae cells had a positive effect on the growth of strawberries and contributed to an increase in productivity growth [13].

Strawberry is a widely used crop around the world. In addition, strawberries are known for their aroma, bright red color, juicy texture and sweetness [14]. It should be noted that its antioxidant properties are beneficial to the human body, and its normal consumption has a positive effect on the neutralization of radicals in the body. Currently, China and the United States produce about 3.8 Mt and 1.4 Mt of strawberries per year. Mexico, Turkey and Spain produced about 468 kt, 415 kt and 366 kt of strawberries in 2016. Currently, strawberries are grown commercially and their seeds are prepared in vitro and propagated in artificial plants [15].

Strawberry seedlings can be grown in soil, hydroponic and soilless production systems, in the open field or in a protected area. The choice of cultivation system depends on climatic conditions, market demand and exports. In China, open field and protected field systems are used [16], open field is the most widely used system in the United States, and Italian manufacturers use special greenhouses. In our study, we studied the effect of nitrogen-fixing cyanobacteria on strawberries, as this plant has a short reproductive period and a large number of roots and shoots. Therefore, the impact of environmental factors can be clearly seen.

The article covers the study of the activity of the enzyme nitrogenase of cyanobacterial strains. In addition, the effect of different concentrations of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain that has high nitrogen fixation activity compared to other cyanobacterial species was studied on the growth rates of *Strawberry Sunrise* T-4 strawberry.

## Materials and methods

**The object of research** is 6 different strains of cyanobacteria from the collection of phototrophic microorganisms of Al-Farabi Kazakh National University – *Anabaena* sp. 7912, *Anabaena* sp. Z-1,

*Anabaena variabilis* R-I-5, *Nostoc calcicola* RI-3, *Nostoc* sp. S-2, *Synechocystis* sp. PCC 6803 strains and *Strawberry Sunrise* T-4 strawberry variety.

### Cultivation of strains of cyanobacteria

Collection strains of cyanobacteria were actively grown in 250 ml flasks at a temperature of 25°C, 450  $\mu\text{mol photon m}^2/\text{sec}$ . The light was transmitted from one side of the flask and a BONY air pump (PRC) was used during cultivation.

### Determination of nitrogenase activity by acetylene method

Nitrogenase activity was determined by injecting a 10% acetylene/90% argon gas mixture into a vial for 30 min [17]. Cells were cultured for 24 hours at 250  $\mu\text{mol photon m}^2/\text{sec}$ . After incubation, 500  $\mu\text{l}$  of gas samples were taken and the concentration of ethylene in the gas mixture was determined. The redox activity of acetylene was determined on a gas chromatograph GC-15A (Shumadzu, USA), and was shown in nmol ethylene/mg dry biomass (mg)/h. Nitrogen-fixing collection strains were cultured under light under anaerobic conditions (90% argon/10% acetylene) for 24 hours and the amount of ethylene released on a gas chromatograph was determined.

### Obtaining biomass of the *Anabaena variabilis* R-I-5 strain

Nitrogen-fixing cyanobacteria strain *Anabaena variabilis* R-I-5 was intensively grown in a 5-liter photobioreactor PBR-5 (Bioreactors, Latvia) under a light of 450  $\mu\text{mol photon m}^2/\text{sec}$  at a temperature of 25°C and aerated with an Airpump 350 (China). BG<sub>0</sub>-11 culture medium was used to increase the accumulation of cyanobacteria. When the optical density was 0.6 the cell biomass was collected the rotating with a Centrifuge 5810 (Eppendorf, USA) at a speed of 5,000 rpm for 15 minutes. The rate of cell growth was measured with an optical density spectrophotometer KFK-3-01 (Russian Federation). The optical densities of the suspension at 6 different concentrations were prepared and measured at a wavelength of 720 nm (Figure 1).



Figure 1 – PBR-5 photobioreactor

### Growing strawberries

*Strawberry Sunrise* T-4 strawberry was obtained from the Biotechnology laboratory of Dankook University (South Korea). In the laboratory, 2-week-old strawberry seedlings grown in vitro are cultivated in a mirror camera “Plant Factory” (Allen, Republic of South Korea). The roots of the seedlings were cut to a length of 3 cm. The length of the plant was 3-4 cm and the number of leaves was the same in all samples. The temperature of the culture chamber was 25°C. The light is on for 12 hours in the dark/12 hours in the light mode. Special red spectrum light bulbs were used for normal growth of strawberries.

### Obtaining dry biomass of strawberries

At the end of the experiment, the strawberry seedlings were removed from the soil, and washed three times. Dried in a Petri dish for 3 days in a dark thermostat “SNOL 67/350” (AB Utenos Electrotechnika) at a temperature of 70 °C. Then, the dry biomass was measured using a laboratory scale (Clever, China).

### Preparation of suspension

*Strawberry Sunrise* T-4 strawberry seedlings were grown in 200 ml hydroponics in a 250 ml moisture storage container. The duration of the study was 30 days. 50 ml of liquid biomass of *Anabaena variabilis* R-I-5 was poured on 50 ml of Murashige and Skoog culture medium and 100 ml of liquid was prepared in 6 different cell concentrations of suspension:

Control 1 - nitrogen in 100 ml of Murashige and Skoog medium (+ KNO<sub>3</sub>);

Control 2 - 100 ml of nitrogen-free Murashige and Skoog medium (- KNO<sub>3</sub>);

Option 1 (0.1 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml suspension of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain - where the total number of cells in 100 ml was 6x10<sup>6</sup> cell/ml;

Option 2 (0.3 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml suspension of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain - where the total number of cells in 100 ml was 12x10<sup>6</sup> cell/ml;

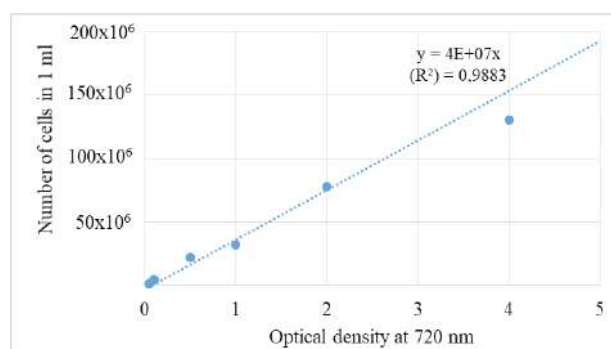
Option 3 (0.6 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml suspension of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain - where the total number of cells in 100 ml was 24x10<sup>6</sup> cell/ml;

Option 4 (1.2 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml suspension of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain - where the total number of cells in 100 ml was 48x10<sup>6</sup> cell/ml;

Option 5 (2.4 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml 2.4 optical density *Anabaena variabilis* RI-5 strain suspension - where the total number of cells in 100 ml was 96x10<sup>6</sup> cell/ml;

Option 6 (4.8 optical density) - 50 ml nitrogen-free Murashige and Skoog medium + 50 ml suspension of *Anabaena variabilis* R-I-5 strain - the total number of cells in 100 ml was 192 x10<sup>6</sup> cell/ml.

The number of cells was measured at different optical densities (0.05, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5) and the 6 different suspension concentrations was measured using a linear measurement using the Excel trend line calculated according to the formula  $y = 4E+07x$ . The mean deviation of the measured optical densities was (R<sup>2</sup>)=0.9883 (Figure 2).



**Figure 2** – Trend line of the ratio of the optical density of the strain *Anabaena variabilis* R-I-5 to the number of cells

### Statistical analysis

The study was conducted 3 times. The results were processed according to the statistical system “ANOVA”. The figures show the arithmetic results of research and deviations from their standards. For the discussion of the results, the standard deviation did not exceed 10% [18].

### Results

Determination of nitrogenase activity based on acetylene oxidation is the most important method that demonstrates the ability of microorganisms to fix nitrogen. Microorganisms (Azotobacter, Cyanobacteria) capable of fixing nitrogen in the air and convert acetylene (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) to ethylene (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) [19]. Because the reduction processes of molecular nitrogen and acetylene are similar, they are widely used to conduct and study nitrogen fixation. If N<sub>2</sub> and C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> gases are present simultaneously in the gas chromatograph vial, then acetylene is reduced



primarily due to the presence of electrons in the carbon atom. Therefore, it is important to create anaerobic conditions (without nitrogen, oxygen, carbon) during the experiment [20,21].

The purpose of this work is to determine the nitrogenase activity of nitrogen-fixing cyanobacteria. Research was conducted to determine the high nitrogenase activity of five different nitrogen-fixing strains from the collection. *Synechocystis* sp. PCC 6803 heterocyst-free strain was obtained as a control.

The results of the obtained gas chromatograph showed that all strains of nitrogen-fixing

cyanobacteria showed nitrogenase activity in acetylene atmosphere. However, their ability to reduce acetylene to ethylene has been shown to vary. According to the results, among the studied species, the strain of *Anabaena variabilis* R-I-5 accumulated relatively low ethylene, and the strain of *Anabaena variabilis* R-I-5 accumulated the highest amount of ethylene ( $3.57 \pm 0.26$  nmol ethylene/mg dry weight (DW)/h). In addition, an experiment with *Nostoc caldicola* RI-3 strain showed a value of  $1.82 \pm 0.06$  nmol ethylene/mg DW/h. As expected, nitrogenase activity was not observed with *Synechocystis* sp. PCC 6803 strain (Figure 3).

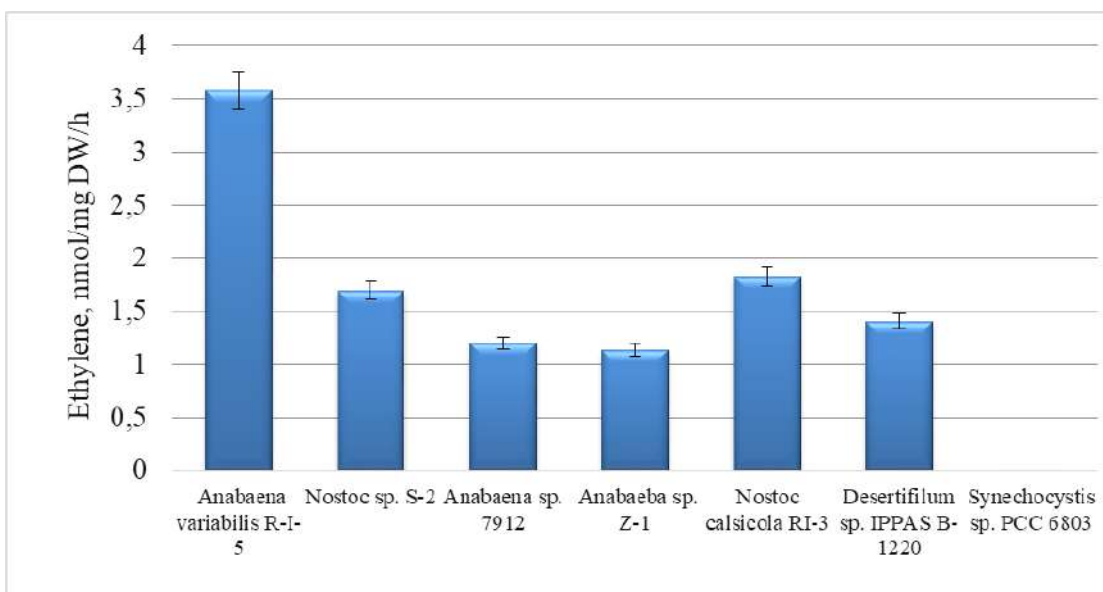


Figure 3 – Results of the study of nitrogenase activity of collecting cyanobacterial strains

During the experiment, *Nostoc* sp. S-2 ( $1.69 \pm 0.05$  nmol ethylene/mg DW/h), *Anabaena* sp. 7912 ( $1.20 \pm 0.03$  nmol ethylene/mg DW/h) *Anabaena* sp. Z-1 strains ( $1.13 \pm 0.014$  nmol ethylene/mg DW/h) showed close results.

The *Anabaena variabilis* R-I-5 strain showed high levels of ethylene and was selected for further research.

The *Anabaena variabilis* R-I-5 strain was characterized by high activity of nitrogen fixation properties. In this context, it is important to study the dynamics of growth. The next step was to study the growth of cells of the *Anabaena variabilis* R-I-5 strain (Figure 4). Active cell growth was recorded from day one and had an optical density of 0.03 units. In the following days (2-11) there was a linear increase and an increase in the number

of cells. On the 11<sup>th</sup> day, the log phase of the culture was completed, the biomass of the cells was obtained in the stationary phase and the high optical density was 2.6 units. On the 14<sup>th</sup> day, the death phase began.

The next step was to determine the effect of nitrogen-fixing cyanobacteria strain on the growth rates of strawberries. In this context, the effect of cyanobacteria *Anabaena variabilis* R-I-5 with high nitrogenase activity on the growth rates of *Strawberry Sunrise* T-4 was studied. In some published articles [22,23,24], *Anabaena* and *Nostoc* strains have shown the ability to replace chemical nitrogen in the nutrient medium with biological nitrogen. This is because they can fix the free nitrogen in the air with the help of the nitrogenase enzyme in heterocysts and distribute it in the soil [25].



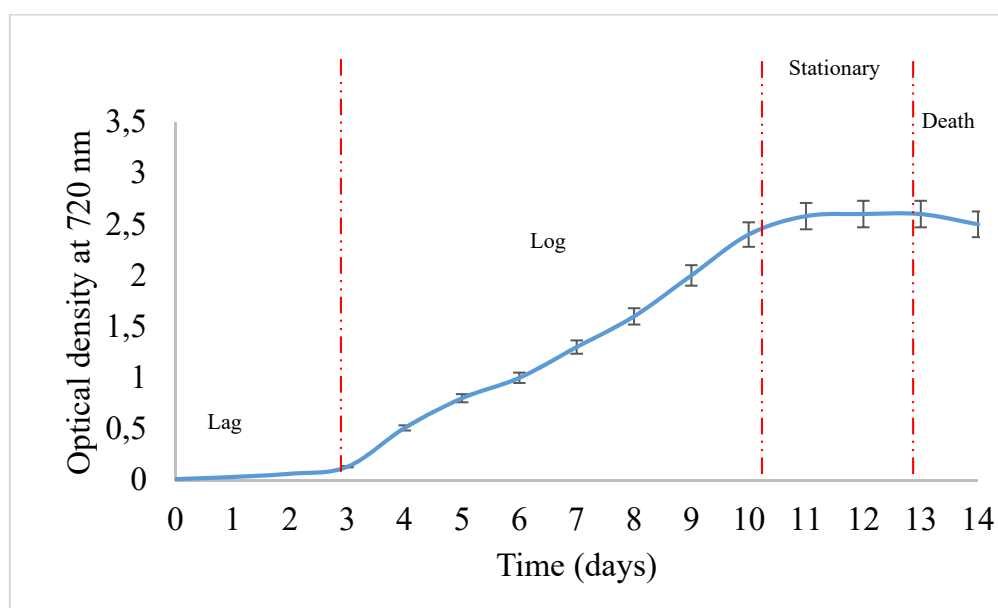


Figure 4 – Growth dynamics of *Anabaena variabilis* R-I-5 cyanobacterial strain

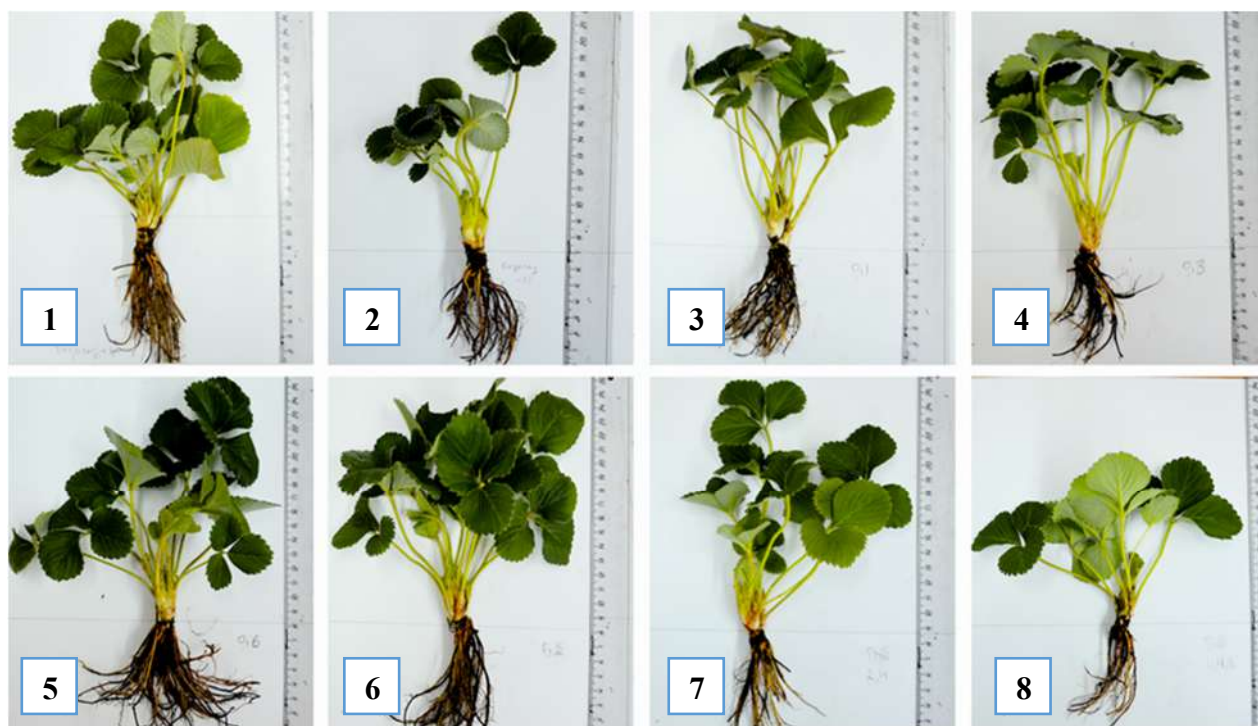
In the study of the biomass effect of different suspension concentrations of the *Anabaena variabilis* R-I-5 strain on the variety *Strawberry Sunrise* T-4, the number of cells per 1 ml was taken into account.

As shown in Figure 5, the growth rates of strawberry seedlings were different. First of all, the number of seedlings was registered. At the end of the experiment, different suspension concentrations of cyanobacterial strains were recorded, respectively, different numbers of leaves. In control 1,  $35 \pm 6.3$  leaves were observed. In option 1, the number of growing leaves was  $26 \pm 5.4$ , and in control 2, a slightly lower value ( $23 \pm 4.3$  leaves) observed. In the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> options there was an increase in the number of leaves. Although the positive growth rates were higher at  $48 \times 10^6$  cell/ml, the increase in cyanobacteria to  $96 \times 10^6$  cell/ml was lower and the number of leaves in this option of the experiment was 34 pieces. In addition, it should be noted that the concentration of cyanobacterial suspension  $192 \times 10^6$  cell/ml had a negative effect on the growth of strawberries. Figure 5 shows a microphoto of strawberries in the control and experimental option on the 30<sup>th</sup> day of the experiment.

Figure 6 shows the results of different suspension concentrations effects of cyanobacterial strains on strawberry seedlings. Next, the number of roots of *Strawberry Sunrise* T-4 seedlings was

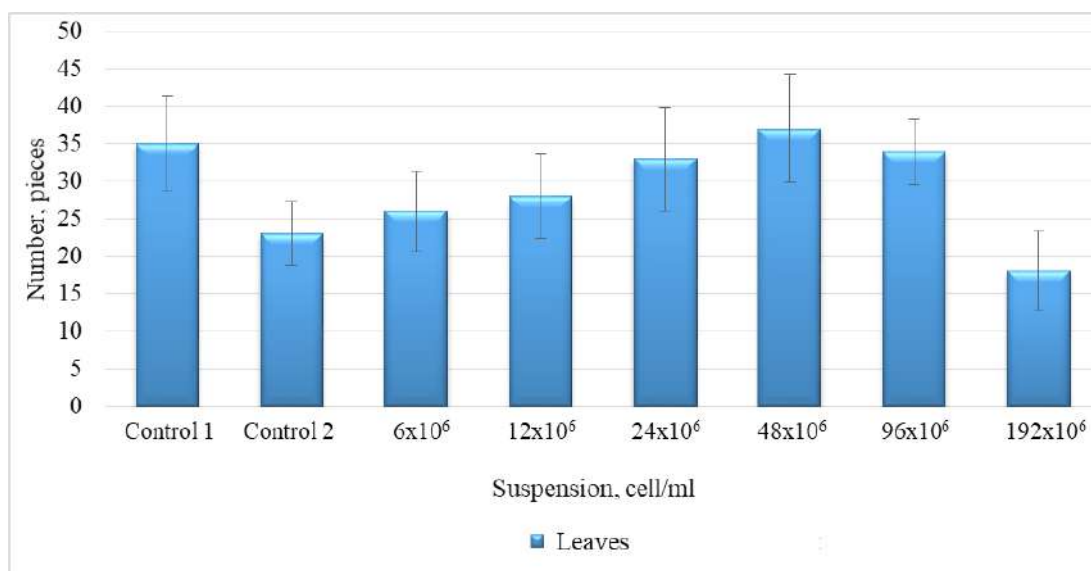
recorded. It is known that the increase in the number of roots ensures the normal growth of plants and the normal transfer of macro and micronutrients in the soil throughout the plant [26,27]. Therefore, it is important to study the effect of a cyanobacterial suspension on the root system of plants.

In control 1,  $15 \pm 2.2$  lateral and umbilical roots were found. In control 1,  $10 \pm 2.1$  roots were registered. In the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> options, the number of growing roots did not differ significantly from control 2 –  $10 \pm 3.2$  and  $11 \pm 2.2$ . However, in option 3, the highest roots value was recorded, which was 1 unit higher than in the nitrogen version of the control ( $16 \pm 1.5$ ). In option 4, there was a decrease in the number of roots, and this control showed an equal result. The results of the study showed that the suspension concentration of cyanobacteria in option 3 had a positive effect on the growth of *Strawberry Sunrise* T-4. As shown in Figure 7, many side effects have been found to have a positive effect on root growth. In option 5 and 6 in this case,  $12 \pm 3$  roots were recorded. It shows that the suspension concentration of excess cyanobacterial cells had a toxic effect on plant growth. When too much suspension was introduced, plant growth slowed down, air circulation was disrupted due to the proliferation of cells on the soil surface, and harmful microorganisms accumulated on the soil surface. This, in turn, leads to rapid disease of plants [28].

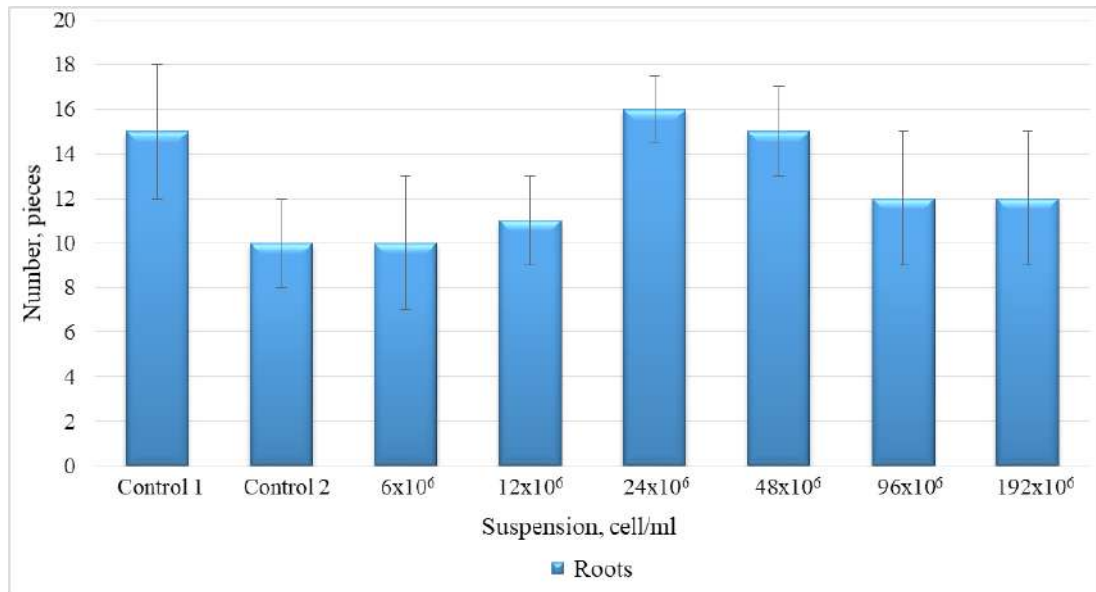


**Figure 5** – Effect of different suspension concentrations of cyanobacterial strain *Anabaena variabilis* R-I-5 on the growth of *Strawberry Sunrise* T-4.

Note: 1 – control 1; 2 – control 2; 3 –  $6 \times 10^6$  cell/ml; 4 –  $12 \times 10^6$  cell/ml; 5 –  $24 \times 10^6$  cell/ml; 6 –  $48 \times 10^6$  cell/ml; 7 –  $96 \times 10^6$  cell/ml; 8 –  $192 \times 10^6$  cell/ml



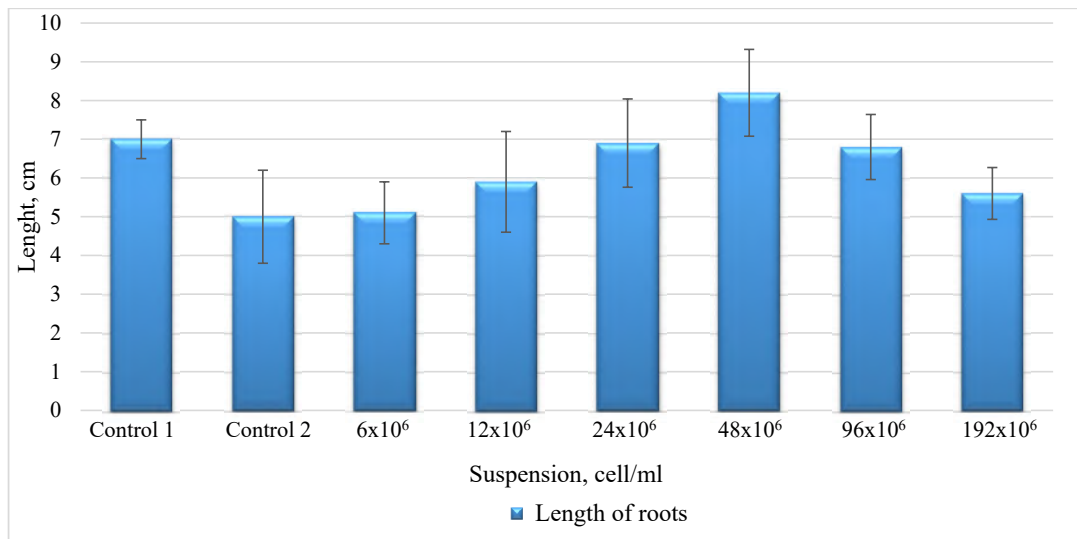
**Figure 6** – Effect of different suspension concentrations of nitrogen-fixing *Anabaena variabilis* R-I-5 on the growth of strawberry leaves



**Figure 7** – The effect of different suspension concentrations of the nitrogen-fixing *Anabaena variabilis* R-I-5 strain on the number of strawberry roots

Next, we studied the length of the root. This is because root length plays an important role in plant growth and molecular nitrogen has a high effect on root growth. Since all macro- and micronutrients come to the plant through the roots, the large number and

length of roots affect the normal growth of the plant. At different suspension concentrations of cyanobacteria species, respectively, grew different root lengths. Control 1 seedlings showed higher values than seedlings with control 2 –  $7 \pm 0.5$  cm and  $5 \pm 1.2$  cm.



**Figure 8** – Effect of different suspension concentrations of cyanobacterium nitrogen-fixing *Anabaena variabilis* R-I-5 strain on the length of strawberry roots

In control 1, an average root length of  $7\pm 0.5$  cm was recorded. In the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> options, the growth rates are slightly higher –  $7\pm 0.8$  cm and  $5.9\pm 1.3$  cm. In addition, the average length of the growing roots in option 4 with a cell concentration of  $48\times 10^6$  cell/ml was  $8.2\pm 1.12$  cm, which was the highest. In option 5, a decrease in root length was observed. The lowest root length was observed in control 2 and option 6 –  $5\pm 1.12$  cm and  $5.6\pm 0.67$  cm. The results showed that the optimal suspension concentration of cells stimulated the growth of strawberries, and the excess reduced the growth of plant roots. Version 4 of *Anabaena variabilis* R-I-5 in  $48\times 10^6$  cell/ml was found to have a positive

effect on the growth of seedlings of *Strawberry Sunrise* T-4 (Fig. 8).

Next, the indicators of plant length were recorded (Table 1). When studying the effect of cyanobacteria, which are able to fix nitrogen at different suspension concentrations, on the growth rate of strawberries, it was found that their length varies. The difference between control 1 and control 2 was 5 cm (Fig. 5). This shows that the strawberry plant is directly dependent on the concentration of nitrogen in the soil. The plant length of  $16\pm 3.5$  cm was recorded in option 4, and in option 5 of  $96\times 10^6$  cell/ml cell fluid and in option 2 of  $12\times 10^6$  cell/ml the same low value was recorded –  $13\pm 2$  cm.

**Table 1** - The effect of different concentrations of cyanobacteria of the nitrogen-fixing strain *Anabaena variabilis* R-I-5 on the growth of strawberries

№	Options of experiment	Growth of strawberries, cm
1	Control 1 – Murashige and Skoog medium with N <sub>2</sub>	$17\pm 2,5$
2	Control 2 – Murashige and Skoog medium without N <sub>2</sub>	$12\pm 1$
3	1-option – $6\times 10^6$ cell/ml (OD–0,1)	$13\pm 2$
4	2- option – $12\times 10^6$ cell/ml (OD–0,3)	$13\pm 2$
5	3- option – $24\times 10^6$ cell/ml (OD–0,6)	$14\pm 2,5$
6	4- option – $48\times 10^6$ cell/ml (OD–1,2)	$16\pm 3,5$
7	5- option – $96\times 10^6$ cell/ml (OD–2,4)	$13\pm 2$
8	6- option – $192\times 10^6$ cell/ml (OD–4,8)	$14\pm 1,5$

In addition, it should be noted that the increase in the number of cells above  $96\times 10^6$  cell/ml had a negative impact on the growth of seedlings. In option 6 with the highest density, a strawberry length of  $14\pm 1.5$  cm was recorded. It should be noted that option 4 has a positive effect on the normal growth of plants.

After measuring all the indicators of strawberry growth, the yield of biomass was determined. It should be noted that the dry biomass of roots, leaves and stems of plants was calculated during the registration of this indicator. At the end of the experiment, the seedlings were washed and placed at 60 °C for 72 hours. As expected,  $2.9\pm 0.6$  g of dry biomass was recorded in 1 control of the nitrogen in the Murashige and Skoog medium, which was close to option 5 (Table 2).

The highest value was recorded in option 4, and this was higher than control 1 to 0.2 g ( $3.1\pm 0.71$  g). However, this indicator was  $2.6\pm 0.8$  g of dry

biomass of strawberry option 3 in  $24\times 10^6$  cell/ml suspension.

The biomass of strawberries affected by different suspension concentrations of cyanobacterial strains was different. The study took into account the length of the stems, the size of the cracks and the thickness of the roots. However, it was not presented in the form of a graph due to the lack of specific common indicators in the study.

In conclusion, it was observed that the strain of cyanobacteria *Anabaena variabilis* R-I-5 affects the growth of strawberries. It was found that this strain absorbs nitrogen from the air with the help of the enzyme nitrogenase and transfers it to the soil. It was found that different suspension concentrations of cells of the studied cyanobacterial strain have different effects on the growth rates of strawberries (number of leaves, number of roots, root length, length of growth, dry weight of the plant).

**Table 2** – Effect of different suspension concentrations of cyanobacterium strain of nitrogen-fixing *Anabaena variabilis* R-I-5 on the weight of strawberries

№	Options of experiment	DW of plant, g
1	Control 1 – Murashige and Skoog medium with N <sub>2</sub>	2,9±0,6
2	Control 2 – Murashige and Skoog medium without N <sub>2</sub>	1,5±0,5
3	1-option – 6x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–0,1)	2,1±0,65
4	2- option – 12x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–0,3)	2,5±0,5
5	3- option – 24x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–0,6)	2,6±0,8
6	4- option – 48x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–1,2)	3,1±0,71
7	5- option – 96x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–2,4)	2,8±0,53
8	6- option – 192x10 <sup>6</sup> cell/ml (OD–4,8)	1,3±0,5

## Discussion

The results of this experiment showed the effect of nitrogen-fixing cyanobacteria on the growth of strawberries. In the study of nitrogenase activity, it should be noted that the strain *Anabaena variabilis* R-I-5 showed the ability to fix high nitrogen. The results obtained in these experiments showed slight differences compared to controls. In the experimental versions, some growth rates were higher than in the standard Murashige and Skoog medium. The strain *Anabaena variabilis* R-I-5 was found to have a positive effect on root length, leaf growth, dry weight of the plant and increase in the number of roots. Studies based on this have shown that cyanobacteria can have a positive effect on root growth and improve soil water and nitrogen metabolism [29,30]. It should be noted that the growth of plants treated with cyanobacterial cells can be influenced by several factors, in particular, the high concentration of chemicals released by cyanobacteria and macro- and micronutrients in the nutrient medium [31]. These heterocystic cyanobacteria increase the amount of nitrogen and ammonium in the soil due to their ability to fix nitrogen. Cyanobacteria use a special enzyme nitrogenase to increase the amount of chemical nitrogen in the soil, and we have identified the activity of nitrogenase in 5 different nitrogen fixing strains. Estimation of nitrogen formation rate of these 5 species shows that these heterocystic cyanobacteria can naturally form atmospheric N<sub>2</sub> (Figure 1). Among them, high nitrogenase activity was observed in the strain *Anabaena variabilis* R-I-5. Our results also showed that the presence of growth-promoting substances responds to the beneficial effects of these cyanobacterial cells on

plant growth. In addition, Shariatmadari (2013) reported that the cells of some cyanobacteria releasing phytohormones IAA (indole 3-acetic acid) and IBA (indole 3-butyric acid) in addition to fixing atmospheric nitrogen [31]. Auxins (IBA) are plant hormones used to stimulate root growth [32]. In addition, some studies suggest that nitrogen-fixing cyanobacteria have a positive effect on plant growth and nutrient uptake [33]. *Nostoc* species increase the amount of organic matter in the soil - (C, N, etc.), increase plant growth and metabolic and energy activity [31]. In addition, polysaccharides released from cyanobacteria affect the structural stability of the soil, improve soil quality and normal plant growth [31].

In our study, slightly lower values were observed when strawberries were irrigated with a high-density cyanobacterial suspension (options 5 and 6). According to the cited literature, an excess of cells can disrupt the metabolism in the soil and prevent the respiration of beneficial microorganisms in the soil. In addition, cell biomass accumulated on the soil surface is likely to inhibit plant growth due to the release of excessive amounts of various chemicals (phytohormones, biologically active substances, etc.). According to Jacoby (2017), excess nitrogen in the soil is likely to adversely affect plant growth [28]. This is because the maximum accumulation of single-stranded heterocysts in a nitrogen-free BG-11 culture medium can reach 8-12 cells. Heterocysts in a humid environment absorb excess nitrogen from the air on the basis of the enzyme nitrogenase and break it down into the soil [34]. In addition, high cell concentrations lead to soil contamination. In this case, the growth of lethal cyanobacterial cells can also cause bacteriological contamination.

## Conclusion

The activity of the enzyme nitrogenase of cyanobacterial strains was studied by the acetylene method. The effect of suspension of six different concentrations of strain *Anabaena variabilis* R-I-5 with relatively high nitrogen fixation intensity on strawberry growth rates (number of leaves, height, number of roots, root length, dry weight) was studied. In the study of the effect of nitrogen-fixing cyanobacteria strain on the growth of seedlings of *Strawberry Sunrise* T-4, it was found that the culture suspension  $24 \times 10^6$  cell/ml had a positive effect on plant root growth. The suspension of cyanobacteria  $48 \times 10^6$  cell/ml had a positive

effect on the number of leaves, root and height of strawberries and the accumulation of dry biomass. Studies have shown that the strain *Anabaena variabilis* R-I-5 can improve the growth of strawberries and provide it with a normal source of nitrogen. In conclusion,  $48 \times 10^6$  cell/ml *Anabaena variabilis* R-I-5 cyanobacterial suspension was found to have a positive effect on the growth of *Strawberry Sunrise* T-4.

## Acknowledgement

The study was conducted under the project of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan: AP08052481; AP08052402.

## References

- 1 Masirbaeva, A.D., Baydildaeva, J.A., Sadanov, A.K., Baygonusova, J.A., Ultanbekova, G.D. "Izucheniye azotfiksiruyushchey aktivnosti i konkurentosposobnosti kluben'kovykh bakteriy roda Rhizobium." ["Study of nitrogen-fixing activity and competitiveness of nodule bacteria of the genus Rhizobium"]. *Seriya biologicheskaya i meditsinskaya* 2, (2014):3252-3262.
- 2 Sarsekeyeva, F., Zayadan, B.K., Ussebayeva, A.A., Bedbenov, V.S., Sinetova, M.A., Los, D.A. "Cyanofules – biofuels from cyanobacteria: reality and perspectives." *Photosynthesis Research* 125, (2015):329-340.
- 3 Misra, S., Kaushik, B.D. "Growth promoting substances of cyanobacteria II. Detection of amino acids, sugars and auxins." *Proc. Indian Natl Sci. Acad* 55, (1989):499-504.
- 4 Misra, S., Kaushik, B.D. "Growth promoting substances of cyanobacteria I. Vitamins and their influence on rice plant." *Proc. Indian Natl Sci. Acad.* 55, (1989):295-300.
- 5 Whitton, B.A. "Soil and rice-fields. Their Diversity in Time and Space." *The Ecology of Cyanobacteria* 66, (2000):233-255.
- 6 Irisarri, P., Gonnet, S., Monza, J. "Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: Diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen." *J. Biotechnol* 91, (2001):95-103.
- 7 Obana, S., Miyamoto, K., Morita, S., Ohmori, M., Inubushi, K. "Effect of *Nostoc* sp. on soil characteristics, plant growth and nutrient uptake." *J. Appl. Phycol.* 19, (2007):641-646.
- 8 Stirk, M.A., Ördog, V., Van, Staden J., Jäger, K. "Cytokinin and auxin-like activity in cyanophyta and microalgae." *J. Appl. Phycol.* 14, (2002):215-221.
- 9 Vaishampayan, A., Sinha, R.P., Hader, D.P., Dey, T., Gupta, A.K., Bhan, U., Rao, A.L. "Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture." *Bot. Rev.* 67, (2001):453-516.
- 10 Mishra U., Pabbi S. Cyanobacteria: A potential biofertilizer for Rice. *Reson*, 2004. P. 6-10.
- 11 Maqubela, M.P., Mkeni, P.N.S., Malam, O., Pardo, M.T., Acqui, L.P.D. "Nostoc cyanobacterial inoculation in South African agricultural soils enhances soil structure, fertility and maize growth." *Plant Soil.* 315, (2008):79-92.
- 12 Thajuddin, N., Subramanian, G. "Cyanobacterial biodiversity and potential application in biotechnology." *Cur. Sci.* 89, (2005):47-57.
- 13 Righini, H., Roberti, R., Baraldi, E. "Use of algae in strawberry management." *Journal of Applied Phycology* 30, (2018):3551-3564
- 14 Khoshnevisan, B., Rafiee, S., Mousazadeh, H. "Environmental impact assessment of open field and greenhouse strawberry production." *Eur J Agron* 50, (2013):29-37.
- 15 Lieten, P. "Advances in strawberry substrate culture during the last twenty years in the Netherlands and Belgium." *Inte J Fruit Sci.* 13, (2013):84-90.
- 16 Herrick, C. (2012) Strawberry growers gather in China. <http://www.growingproduce.com/fruits/strawberry-growers-gather-in-china/>
- 17 Kossalbayev, B.D., Tomo, T., Zayadan, B.K., Sadvakasova, A.K., Bolatkhan, K., Alwasel, S., Allakhverdiev, S.I. "Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production." *International Journal of Hydrogen Energy* 45, (2020):2627-2639.
- 18 Mikolasch, A., Donath, M., Reinhard, A., Herzer, C., Zayadan, B., Urich, T., Schauer, F. "Diversity and degradative capabilities of bacteria and fungi isolated from oil-contaminated and hydrocarbon-polluted soils in Kazakhstan." *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, (2019):7261-7274.
- 19 Hardy, R.W., Holsten, R.D., Jackson, E.K., Burns, R.C. "The acetylene-ethylene assay for n(2) fixation: laboratory and field evaluation." *Plant Physiol.* 43, (1968):1185-1207.



- 20 Das, S., De, T.K. "Microbial assay of N<sub>2</sub> fixation rate, a simple alternate for acetylene reduction assay." *MethodsX* 6, (2018):909-914.
- 21 Zayadan, B.K., Bolatkhan, K., Akmukhanova, N.R., Sadvakasova, A.K., Sinetova, M.A., Los, D.A. "Isolation and Characterization of Toxic Cyanobacteria from Different Natural Sources." *Applied Biochemistry and Microbiology* 53, (2017) :7.
- 22 Bothe, H., Schmitz, O., Yates, M.G., Newton, W.E. "Nitrogen fixation and hydrogen metabolism in cyanobacteria // *Microbiology and molecular biology reviews.*" *MMBR* 74, (2010):529-551.
- 23 Anisha, G.S., John, R.P. Bio-engineering algae as a source of hydrogen. *Advances in Hydrogen Production, Storage and Distribution*, 2014. P. 248-262.
- 24 Herrero, A., Muro-Pastor, A.M., Flores, E. "Nitrogen Control in Cyanobacteria." *Journal of Bacteriology* 183, (2001):411-425.
- 25 Takuji, O. Nitrogen as a major essential element of plants. *Nitrogen Assimilation in Plants*, 2010. P.18.
- 26 Fageria, N., Adonis, M. "The Role of Mineral Nutrition on Root Growth of Crop Plants." *Advances in Agronomy - ADVAN AGRON* 110, (2011):251-331.
- 27 White, P.J., Brown, P.H. "Plant nutrition for sustainable development and global health." *Ann Bot.* 105, (2010):1073–1080.
- 28 Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., Kopriva, S. "The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition-Current Knowledge and Future Directions." *Front Plant Sci.* 8, (2017):1617-1622.
- 29 Pan, B., Bai, Y.M., Leibovitch, S., Smith, D.L. "Plant growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short growing season area." *Eur. J. Agron.* 11, (1999):179-186.
- 30 Zahir, A.Z., Abbas, S.A., Khalid, A., Arshad, M. "Substrate dependent microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedling." *Pak. J. Biol. Sci.* 3, (2000):289-291.
- 31 Shariatmadari, Z., Riahi, H., Hashtroudi, M. S., Ghassempour, A., Aghashariatmadary, Z. "Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran." *Soil Science and Plant Nutrition* 59, (2013):535-547.
- 32 Lee, C.I., Hackett, W.P. "Root regeneration of transplanted *Pistacia chinensis* Bunge seedlings at different growth stages." *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101, (1976):236-240.
- 33 Obana, S., Miyamoto, K., Morita, S., Ohmori, M., Inubushi, K. "Effect of *Nostoc* sp. on soil characteristics, plant growth and nutrient uptake." *J. Appl. Phycol.* 19, (2007):641-646.
- 34 Bolatkhan, K., Kossalbayev, B.D., Zayadan, B.K., Tomo, T., Veziroglu, T.N., Allakhverdiev, S.I. "Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives." *International Journal of Hydrogen Energy* 44, (2019):5799-5811.

**I. Swiecicka<sup>1</sup>, G.K. Kaiyrmanova<sup>2\*</sup>, A.K. Yernazarova<sup>2</sup>,  
A.Y. Toregeldiyeva<sup>2</sup>, G.K. Zhabasova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>University of Bialystok, Poland, Bialystok

<sup>2</sup>Research Institute of Ecology, Kazakhstan, Almaty,

\*e-mail: kaiyrman@mail.ru

## **STUDY OF THE POROSITY OF LIMESTONE DURING THE CULTIVATION OF MICROORGANISMS**

This article presents the results of changes in porosity of limestone, as a model material of an oil carbonate reservoir, during the cultivation of microorganisms, which are isolated from extreme underground conditions like depleted oil reservoir, that is capable of producing active oil-liquefying and oil-displacing metabolites. Microbial metabolites – acids and alcohols – dissolve carbonate rocks, prevent salt deposition, increase porosity, oil mobility and formation permeability. The purpose of this study is to examine changes in open porosity of limestone, which is a model material of the carbonate reservoir of oil, during the cultivation of microorganisms in waters of productive oil strata for 30 days. As a result of this research, it was found that all 8 bacterial cultures with high target activity (acid, gas formation, oil emulsification) are capable of increasing the porosity of limestone (chalk) from 6.5-15.3 %. It was found out that two cultures, namely *Bacillus* sp. KB-4 and *Bacillus cereus* KB-2 have the maximum ability to expand limestone pores. As such, porosity coefficient of the material increased from 33,8% and 33,3% to 48,5% and 48,6%, respectively. As a result of our research, two cultures of bacteria, *Bacillus* sp. KB-4 and *Bacillus cereus* KB-2, were selected as having potential for the development of microbiological methods to improving oil recovery of depleted oil reservoirs.

**Key words:** microorganisms, enhanced oil recovery, porosity, limestone, acidifier.

**И. Свециска<sup>1</sup>, Г.К. Кайырманова<sup>2\*</sup>, А.К. Ерназарова<sup>2</sup>,  
А.Е. Торегелдиева<sup>2</sup>, Г.К. Жабасова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Белосток университеті, Польша, Белосток қ.

<sup>2</sup>Экология мәселелері ҒЗИ, Қазақстан, Алматы қ.,

\*e-mail: kaiyrman@mail.ru,

### **Микроорганизмдерді дақылдауда әктастың кеуектілігін зерттеу**

Мақалада экстремалды жер асты жағдайларынан бөлініп алынған микроорганизмдерді дақылдау кезінде әктас кеуектілігінің өзгеру нәтижелері берілген. Зерттеуде қолданған биообъектілер – жоғары мұнай сұйылтушы және мұнайығыстырушы белсенділікке ие, ал мұнайдың карбонатты коллекторының моделі ретінде әктастың түрі – бор алынды. Микробтық метаболиттер – қышқылдар мен спирттер – карбонатты таужыныстарды ерітеді, тұздың түсуіне жол бермейді, кеуектілікті, мұнайдың қозғалғыштығын және пласт өткізгіштігін жоғарылатады. Зерттеудің мақсаты – 45 °С температурада 30 тәулік бойы мұнай пласт суларында микроорганизмдерді дақылдаудан кейін әктастың ашық кеуектілігінің өзгеруін зерттеу болып табылады. Жүргізілген зерттеу нәтижесінде жоғары мақсатты белсенділікке ие (қышқыл-, газтүзу және мұнайэмульсиялау қасиеті) барлық 8 бактерия дақылдары әктастың кеуектілігін 6,5-15,3 %-ға дейін арттыруға қабілетті екендігі анықталды. Әктас саңылауларын максималды кеңейту қабілетіне *Bacillus* sp. KB-4 және *Bacillus cereus* KB-2 дақылдары ие екендігі көрсетілді, солай материалдың ашық кеуектілік коэффициенті 48,5% және 48,6%-ға дейін өсті (бастапқы көрсеткіштер – 33,8% және 33,3%), сәйкесінше. Мұнайпласт суларында микроорганизмдерді дақылдау барысында әктастың кеуектілігінің зерттеу нәтижесінде келесі екі бактерия дақылдары – *Bacillus* sp. KB-4 және *Bacillus cereus* KB-2 іріктеліп алынды және олар мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістерді құрастыруында перспективті объектілер ретінде ұсынады.

**Түйін сөздер:** микроорганизмдер, мұнай шығаруды жоғарылату, кеуектілік, әктас, қышқылтүзуші.

И. Свециска<sup>1</sup>, Г.К. Кайырманова<sup>2\*</sup>, А.К. Ерназарова<sup>2</sup>,  
А.Е. Торегелдиева<sup>2</sup>, Г.К. Жабасова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белостокский университет, Польша, г. Белосток

<sup>2</sup>НИИ Проблем Экологии, Казахстан, г. Алматы,

\*e-mail: kaiyrman@mail.ru,

### Изучение пористости известняка при культивировании микроорганизмов

В статье представлены результаты изменения пористости известняка при культивировании микроорганизмов, выделенных из экстремальных подземных условий, разработанных нефтепластов. Искользованные биообъекты являются активными продуцентами нефтеразжижающих и нефтевытесняющих метаболитов, в качестве модели карбонатного коллектора нефти использовался известняк (мел). Микробные метаболиты – кислоты и спирты, растворяя карбонатные породы, предотвращают солеотложения, увеличивают пористость, подвижность нефти и проницаемость пласта. Целью данного исследования является изучение изменения открытой пористости известняка после культивирования микроорганизмов на нефтепластовой воде в течение 30 суток при температуре 45 °С. В ходе проведенных исследований выявлено, что все 8 культур бактерий, обладающих высокой целевой активностью (кислото-, газообразование, нефтеэмульгирование), способны к увеличению пористости известняка (мела) от 6,5-15,3 %. Выявлено, что максимальной способностью к расширению пор известняка обладают культуры *Bacillus* sp. КБ-4 и *Bacillus cereus* КБ-2. Так, коэффициент пористости материала увеличился до 48,5% и 48,6% (исх. показатели – 33,8% и 33,3%) соответственно. В результате изучения изменения пористости известняка при культивировании микроорганизмов на нефтепластовой воде отобраны две культуры бактерий *Bacillus* sp. КБ-4 и *Bacillus cereus* КБ-2, как перспективные объекты для разработки микробиологических методов повышения нефтеотдачи разработанных нефтепластов.

**Ключевые слова:** микроорганизмы, повышение нефтеотдачи, пористость, известняк, кислотообразователь.

## Introduction

Oil is central to Kazakhstan's energy security, but the main large fields have already entered the late stage of development and are characterized by a high degree of water-bearing nature and low production rates. The production methods currently in use make it possible to extract only 20-45 % of the oil contained in oil source rocks [1, 2]. As such, microbiological methods for extracting residual oil from reservoirs are needed to be employed due to their low capital intensity, efficiency and environmental safety. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) methods could potentially have extremely low operating costs. These methods have several advantages over secondary EOR (enhancing oil recovery) methods: they do not consume a lot of energy, like thermal processes, and do not depend on the oil price, like many chemical processes do [3, 4].

In Western Kazakhstan, the most characteristic rocks containing oil and gas are clay-carbonate and carbonate oil reservoirs located between poorly permeable rocks (for example, clay, marl, shale) [5, 6]. Residual oil is distributed in the reservoir in the so-called macro traps, as well as in the micropores of carbonate oil reservoirs [7, 8].

Bacteria are the only microorganisms used for MEOR, their target metabolites such as gases, acids, solvents, biosurfactants, biopolymers, biomass itself. In addition, their ability to withstand extreme conditions similar to those that exist in subterranean formations in terms of pressure, temperature, pH and salinity, increase their attractiveness for use in enhanced oil recovery [4, 8].

Bacteria of the genera *Bacillus* and *Clostridium* are the most common groups of microorganisms used for MEOR purposes, since they actively produce of useful products for biotechnology and they form resistant endospores that facilitate their survival in extreme conditions of underground ecosystems.

As a result of activation of microbiological processes in the oil reservoir, the following metabolites are formed: organic acids, alcohols, microbial surfactants, gases – hydrogen, nitrogen, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, which contribute to an improvement in the efficiency of wettability of rocks, reduction in the viscosity of oil, an increase in the pore size of rocks in oil reservoirs, which leads to the displacement of oil from the macro- and micropores of host rocks. Microbial metabolites – acids and alcohols, while dissolving carbonate rocks, they prevent salt deposi-

tion, increase porosity, oil mobility and formation permeability [8, 9, 10, 11].

Most current microbiological research is aimed at studying the reduction of oil viscosity using metabolites of microorganisms, and much less attention is paid to the study of changes in the porosity of parent rocks as a result of the vital activity of microbes as one of the mechanisms of oil displacement from reservoirs [12, 13, 14].

Rock porosity is the main indicator for calculating the reserves of natural gas and oil in the reservoir, i.e. porosity is a capacitive characteristic representing the total volume of free or fluid-filled voids, expressed as a percentage of the volume of the rock. The pores can be open or closed. The total volume of pores connected to each other and to the external environment, related to the volume of the entire rock, is called open or effective porosity. Rock porosity can be vastly different: on the one hand, there are practically non-porous rocks; on the other hand, there are those in which the porosity reaches 90%. The average rock porosity is 1,5–35 % [15, 16].

The purpose of this research is to study the change in porosity of limestone as a model material of a carbonate oil reservoir during the cultivation of microorganisms isolated from depleted oil reservoirs and capable of releasing oil-diluting and oil-displacing metabolites.

### Materials and research methods

The work used the following 8 strains of microorganisms, isolated from the oil reservoir waters of the Western Kazakhstan fields and selected for a number of target properties:

1. *Bacillus sp.* KB-4 – acidifier and gasifier;
2. *B. cereus* ZhB-1 – acidifier;
3. *Bacillus sp.* ZhS-1 – emulsifier, acidifier;
4. *Bacillus sp.* KMA-2 – acidifier;
5. *Bacillus sp.* KM-2 – acidifier, gasifier;
6. *B. cereus* KB-2 – emulsifier, acidifier, gasifier;
7. *Bacillus sp.* KE-1 – emulsifier, blowing agent;
8. *Bacillus sp.* ZhM-3 is an acidifier.

To determine the open rock porosity, limestone (chalk) was used as a model material of the carbonate oil reservoir in the form of separate 2 cm x 2.4 cm blocks (Figure 1). The chemical composition of limestone is represented by calcium carbonate interspersed with magnesium carbonate. There is also a non-carbonate part, in the form of metal oxides, with impurities of the smallest grains of quartz and microscopic pseudomorphs of calcite in fossil marine organisms. One of the properties of calcium carbonate, which is present in limestone,

is the ability to slowly dissolve in water and decompose into carbon dioxide and corresponding bases. In nature, the process of slow dissolution of calcium carbonates in water is the most important factor in the formation of karst (voids in rocks). The second process, carbonate decomposition into carbon dioxide and the corresponding bases, under the influence of the temperature of the Earth magma, is a source of gas for underground mineral waters.

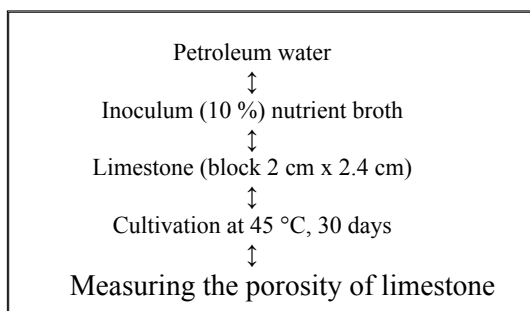


**Figure 1** – Limestone (chalk) – model material of a carbonate oil reservoir

The determination of the open porosity of rocks was carried out using the Preobrazhensky method, keeping in mind C. Hall recommendations for taking into account dry and saturated weight of limestone [15, 17]. The Preobrazhensky method is based on determining the volume of voids in a sample (by taking into consideration the difference in the weight of a dry and a liquid-saturated samples), its external volume (by taking into consideration the difference in the weight of a liquid-saturated sample in air and in a saturating liquid) and calculating the porosity coefficient by dividing the first volume by the second. A standard cylindrical rock sample is dried at 105 °C, weighed and the dry weight of the sample is measured. The next stage: the sample is saturated under vacuum with a working fluid – oil-water water (“Akingen” field). Then the saturated sample is taken out, excess oil reservoir water removed by quot; rolling quot; on the glass, because the use of matter or a sponge to remove liquid from the surface of the sample can lead to the removal of the working liquid from the near-surface pores of the sample and lead to significant errors in the results. A sign of sufficient moisture removal is the appearance of the characteristic matt appearance of the rock and the disappearance of gloss on the sample surface. Then the saturated rock sample is weighed in air. The open porosity of the rock is determined by the

ratio of the void space of the sample to its total volume, usually expressed as a percentage [15].

Figure 2 shows a scheme for determining the change in the porosity of limestone during the growth of selected cultures of microorganisms on oil-reservoir water.



**Figure 2** – Scheme for determining the change in chalk porosity during the growth of cultures of microorganisms on a oil formation water

This research was carried out at the accredited testing laboratory of the Research Institute of Ecology Problems in the field of microbiological research of KazNU named after al-Farabi (GOST ISO / IEC 17025-2019).

### Research results and discussion

The main factors behind a decrease in the productivity of old oil fields in the late stages of development by industrially developed methods, are low rock permeability, an increase in oil viscosity and, therefore, low oil recovery rates, no more than 20-55% of

the reservoir [1, 2, 6, 18, 19]. In microbial technologies, oil displacement uses the same mechanisms as in physicochemical methods, however, in biotechnology, the formation of microbial metabolites occurs directly in the oil layers, which increases the effectiveness of their impact on the formation. The basis of the mechanism of oil liquefaction and oil displacement is the formation of acids, alcohols, solvents and gases throughout microbes' lives [18, 19].

Increasing the porosity of the host rocks also increases the mobility of oil in the formation, facilitating oil recovery. The presence of a void space in the rocks that can be filled with gas, oil or water determines the capacitive properties of reservoir rocks. Void spaces can be of various types: canal, branched vesicular and slit-like. Pore space geometry can also be determined by the shape, size of individual pores and their relationship. Full porosity is the volume of all pores in the rock, open porosity – communicating with each other and with the external environment, are usually represented by winding channels. An indicator of open porosity is usually used in oilfield production, which correlates with oil recovery from reservoirs, i.e. the open porosity coefficient characterizes the capacitive properties of reservoir rocks, i.e. the volume of hydrocarbons contained in the rock [20, 21].

We have carried out a study of the open porosity of limestone using Preobrazhensky's method of liquid saturation. It is known that carbonate rocks differ in porosity and heterogeneity of the void space. Therefore, 9 limestone samples were taken. Table 1 shows the results of determining the open porosity of 9 samples of limestone saturated with petroleum water without microorganisms.

**Table 1** – Determining open porosity of limestone

Limestone samples	Sample weight, grams			Porosity coefficient, %
	dry	saturated in the air	saturated in working fluid	
1.	10,75±0,51	12,38±0,67	7,15±0,32	31,2±1,3
2.	10,36±0,45	12,36±0,60	6,43±0,31	33,8±1,1
3.	21,7±0,83	25,54±1,24	14,26±0,62	34,0±1,2
4.	16,80±0,75	19,81±0,69	11,17±0,47	34,0±1,4
5.	18,53±0,80	21,22±0,83	13,3±0,51	33,9±1,2
6.	19,17±0,76	22,53±0,89	12,43±0,46	33,3±1,1
7.	18,71±0,81	21,91±0,94	12,74±0,58	31,5±1,0
8.	17,22±0,83	19,43±0,57	12,96±0,62	34,2±1,3
9.	22,26±0,95	25,25±1,03	15,48±0,68	30,6±0,9

As can be seen from the graph, the porosity values for 9 limestone samples, presented as 2 cm x 2.4 cm bars with different weights (grams) without microorganisms, do not vary greatly and make up 30,6-34,2 %. Porosity coefficient value depends on the size, shape, composition of mineral grains of the rock. The size of the rock pore channels is interrelated with the rock permeability index: smaller pores (the diameter of subcapillary pores is less than 0.0002 mm) mean that movement of liquid or oil in the rock is practically impossible, therefore such rocks are classified as impermeable or poorly permeable, most often limestones, clays, shales. Accordingly, in rocks with macropores (supercapillary – 0,508-2 mm), fluid movement occurs freely. A number of geological studies have shown that the values of open porosity of limestone are in the range from 6 to 35 % [5, 22, 23].

Microbiological processes in oil reservoirs lead to aerobic-anaerobic transformation of petroleum

hydrocarbons, other organic compounds contained in the injected water and the subsequent formation of biodegradation products such as lower fatty acids (lactic and acetic), alcohols (butyl, ethyl), microbial surfactants (emulsan), biopolymers (xanthan), gases ( $N_2$ ,  $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ), which have proven to be oil-thinning and oil-displacing agents. In particular, these same agents contribute to the process of microbial leaching of carbonate rocks, as a result of which the crystalline network of the oil reservoir dissolves and the porosity of the formation increases. An increase in biogas in the reservoir, mainly carbon dioxide and methane which are products of complete mineralization of hydrocarbons, contributes to an increase in in-situ pressure [8, 9].

Table 2 presents the results of studying the porosity of limestone during the cultivation of microorganisms with high acid and gas-forming activities on it. Microorganisms were not used. The experiment lasted 30 days.

**Table 2** – Determining open porosity of limestone during the cultivation of microorganisms (30th day)

№	Microorganisms	Sample weight, grams			Porosity coefficient, %
		dry	saturated in the air	saturated in working fluid	
1	Control	10,75±0,54	12,62±0,68	6,88±0,31	32,6±1,5
2	<i>Bacillus sp. KB-4</i>	10,36±0,45	13,95±0,61	6,55±0,23	48,5±2,3
3	<i>B. cereus ZhB-1</i>	21,7±0,73	26,71±0,56	14,5±0,61	41±2,0
4	<i>Bacillus sp. ZhS-1</i>	16,8±0,67	20,74±0,59	11,32±0,52	41,8±1,5
5	<i>Bacillus sp. KMA-2</i>	18,53±0,60	23,08±0,72	12,7±0,59	43,8±2,1
6	<i>B. cereus KB-2</i>	19,17±0,70	23,09±0,79	15,02±0,63	48,6±2,3
7	<i>Bacillus sp. KM-2</i>	18,71±0,61	23,04±0,85	12,82±0,39	42,4±2,0
8	<i>Bacillus sp. KE-1</i>	17,22±0,63	21,02±0,9	11,70±0,41	40,7±1,8
9	<i>Bacillus sp. ZhM-3</i>	22,26±0,65	28,02±0,77	15,93±0,49	47,6±2,3

As can be seen from the graph, the porosity of limestone with the growth of selected cultures of microorganisms on it increases within 40,7-48,6 %, while in the case of control without microbes this indicator is at 32,6 %. Rock pores are subdivided into primary and secondary by origin. Primary pores arise from rock formation. These are structural pores between rock particles. Secondary pores appear after the formation of the rock as a result of tectonic processes; leaching; deformation under pressure; weathering [20]. In this case, we associate an increase in the porosity of limestone with microbial leaching of limestone

carbonates, since the microbes used are active acid-forming agents, isolated from oil reservoir waters.

Table 3 presents a comparative analysis of the study of the porosity of limestone during the cultivation of microorganisms.

As can be seen from the diagram, in the process of cultivating bacteria using oil reservoir water, all 8 cultures of microorganisms contribute to an increase in the porosity of limestone from 6,5-15,3 %. It should be noted that the open porosity of carbonate oil reservoirs in practice varies from 2 – 35 % [17, 24, 25]. The maximum increase in limestone



porosity by 1,7 % and 15,3 % is observed during the cultivation of two cultures of *Bacillus sp.* KB-4 and *B. cereus* KB-2, respectively. It should be noted that

these cultures of microorganisms are active acid and gas formers, and in the case of *B. cereus* KB-2 is also an oil emulsifier.

**Table 3** – Evaluation of the change in the porosity of limestone during the cultivation of microorganisms on oil reservoir water

№	№	Porosity coefficient, %		Increase in porosity, %
		day 0	day 30	
1	Control	31,2±1,3	32,6±1,5	1,4±0,05
2	<i>Bacillus sp.</i> KB-4	33,8±1,1	48,5±2,3	14,7±0,6
3	<i>B. cereus</i> ZhB-1	34,0±1,2	41±2,0	7±0,2
4	<i>Bacillus sp.</i> ZhS-1	34,0±1,4	41,8±1,5	7,8±0,3
5	<i>Bacillus sp.</i> KMA-2	33,9±1,2	43,8±2,1	9,9±0,4
6	<i>B. cereus</i> KB-2	33,3±1,1	48,6±2,3	15,3±0,6
7	<i>Bacillus sp.</i> KM-2	31,5±1,0	42,4±2,0	10,9±0,5
8	<i>Bacillus sp.</i> KE-1	34,2±1,3	40,7±1,8	6,5±0,1
9	<i>Bacillus sp.</i> ZhM-3	30,6±0,9	47,6±2,3	7±0,1

Therefore, as a result of the studies carried out, it was revealed that all 8 cultures of bacteria isolated from oil-stratal waters and having a high target activity are capable of increasing the porosity of limestone (chalk). It was estimated that of the 8 microorganism cultures studied, two cultures of *Bacillus sp.* KB-4 and *B. cereus* KB-2 have the maximum ability to expand the pores of limestone, so the coefficient of open porosity of limestone during their cultivation for 30 days increased from the initial porosity of 33,8 % and 33,3 % to 48,5 % and 48,6 %, respectively.

### Conclusion

The study of changes in the porosity of limestone as a model material of a carbonate oil reservoir, during the cultivation of microorganisms isolated from extreme conditions, depleted oil reservoirs, capable of active release of oil-diluting and oil-displacing metabolites, allowed the following conclusions:

It was revealed that all 8 cultures of bacteria, isolated from oil-reservoir waters and possessing high target activity (acid, gas formation, oil emulsification), are capable of increasing the porosity of limestone (chalk) from 6,5-15,3 %.

It was also revealed that *Bacillus sp.* KB-4 and *B. cereus* KB-2 have the maximum ability to expand the pores of limestone. The coefficient of porosity of the material increased from the original porosity of 33,8% and 33,3% to 48,5% and 48,6%, respectively.

Having researched the changes in the porosity of limestone during the cultivation of microorganisms in oil reservoir water, two cultures of bacteria *Bacillus sp.* KB-4 and *B. cereus* KB-2 have been selected for the development of microbiological methods to enhance oil recovery from depleted oil reservoirs.

### Conflict of interest

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

### Source of funding

The work was carried out under the project of state funding AR 05134797 “Creation of a technological scheme for carrying out enhanced oil recovery using the microbiological method” No. 188RK00166 (2018-2020).

## References

- 1 Beisekov, S.S. "Izvlечeniye ostatochnoy nefi iz vyrabotannykh mestorozhdeniy [Extraction of residual oil from developed fields]." *Petroleum*. 3 (2015): 34-37. (In Russian)
- 2 Yelemanov, B.D. "Osnovnye problemy razrabotki neftyanykh mestorozhdeniy, oslozhnennoy korroziyey, otlozheniyami parafina i soley na primere mestorozhdeniy Respubliki Kazakhstan: «Tengiz», «Karachaganak», «Uzen'» i «Zhetybay» [The main problems of development of oil fields complicated by corrosion, deposits of paraffin and salts on the example of deposits of the Republic of Kazakhstan: "Tengiz", "Karachaganak", "Uzen" and "Zhetybay"]." Dissertation of doctor of technical sciences. MRSU of oil and gas named after them I. M. Gubkin. (2003): 438. (In Russian)
- 3 Aleklett, A., Hook, M., Jakobsson, K., Lardelli, M., Snowden, S., et al. "The peak of oil age-analyzing the world oil production scenario in world energy outlook 2008." *Energy Policy*. 38, 3 (2010): 1398-1414.
- 4 Lazar, I., Petrisor, I.G., Yen, T.E. "Microbial enhanced oil recovery (MEOR)." *Petroleum Science and Technology*. 25, 11 (2007): 1353-1366.
- 5 Khanin, A. A. "Porody-kollektory nefi i gaza neftegazonosnykh provintsiy SSSR [Rocks-collectors of oil and gas of oil and gas-bearing provinces of the USSR]." M.: Nedra. (1973): 304. (In Russian)
- 6 Beysekov, S.S., Kurbanov, R.R., Balgynova, A.M. "Povysheniye koeffitsiyenta nefteizvlечeniya vyzakikh neftey [Increase in the coefficient of oil recovery of viscous oils]." 1 (2017): 47-50. (In Russian)
- 7 Fatkullina, A.S., Sadchikov, A.V. "Use of biogas installation products for oil recovery." "Modern problems of science and education." 3 (2014): 37-44.
- 8 Ibragimov, R.K., Molodtsov, S.D., Zinnurova, O.V., Baranov, D.V., Ibragimova, D.A., Valiullin, A.E., Petrova, A.N. "Mikrobiologicheskiye metody uvelicheniya dobychi nefi: obzor [Microbiological methods of increasing oil production: overview]." *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 19, 24 (2016): 35-39. (In Russian)
- 9 Fujiwara, K., Sugai, Y., Yazawa, N., Ohno, K., Hong, C.X., Enomoto, H. "Biotechnological approach for development of microbial enhanced oil recovery technique." *Studies in Surface Science and Catalysis*. 151 (2004): 405-445.
- 10 Maudgalya, S., Knapp, R.M., Mcinerney, M.J. "Microbially enhanced oil recovery technologies: a review of the past, present and future." *Society of Petroleum Engineers*. 1 (2007): 112-116.
- 11 Ismaylov, N.M., Mamedyarov, M.A. "Experience in the development and implementation of ecology biotechnology for enhanced oil recovery in Azerbaijan." *Petromicrobiology*. 12 (2010): 28-30.
- 12 Nikolova, C., Gutierrez, T. "Use of microorganisms in the recovery of oil from recalcitrant oil reservoirs: current state of knowledge, technological advances and future perspectives." *Frontiers in Microbiology*. 10 (2020): 2-18.
- 13 Joshi, S., Bharucha, C., Jha, S., Yadav, S., Nerurkar, A., Desai, A.J. "Biosurfactant production using molasses and whey under thermophilic conditions." *Bioresource Technology*. 99, 1 (2008): 195-199.
- 14 Eduardo, J., Gudina, E., Fernandes, C., Rodrigues, A.I., Teixeira, J.A., Rodrigues, L.R. "Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* using corn steep liquor as culture medium." *Frontiers in Microbiology*. 6 (2015): 6-9.
- 15 Ivanov, M.K., Burlin, Yu.K., Kalmykov, G.A., Karnyushina, E.E., Korobova, N.I. "Petrofizicheskiye metody issledovaniya kernovogo materiala [Petrophysical methods of core material research]." Moscow: Publishing House of Moscow University. (2008): 112. (In Russian)
- 16 Karmansky, A.T. "Kollektorskiye svoystva gornykh porod pri smene tipa napryazhennogo sostoyaniya [Collector properties of rocks during a change in the type of stress state]." *Notes of the Mining Institute*. 183 (2009): 289-292. (In Russian)
- 17 Hall, C., Hamilton, A. "Porosities of building limestones: using the solid density to assess data quality." *Mater Structures*. 49 (2016): 1-11.
- 18 Karatayev, M., Koshim, A., Nock, W., Clarke, M. "Environmental impact assessment of oil production and transportation in Caspian Lowland and Ustyurt Plateau in Kazakhstan using remote sensing and GIS modelling tools." *Geophysical Research Abstracts*. 21 (2019): 1-1.
- 19 Rao, D. "Gas injection EOR – A new meaning in the new millennium." *Journal of Canadian Petroleum Technology*. 40, 2 (2001): 11-19.
- 20 Kozina, E. A. et al. "Osnovnyye tipy karbonatnykh kollektorov nefiturneyskogo yarusa respubliki Tatarstan [The main types of carbonate reservoirs of the neftiturneyskiy tier of the Republic of Tatarstan]." *Oil and gas business*. 3 (2005): 31-40. (In Russian)
- 21 Bragin, Yu.I., Ivanova, M.M., Cholovsky, I.P. "Neftegazopromyslovaya geologiya zalezhey uglevodorodov [Oil and gas field geology of hydrocarbon deposits]." Moscow. (2006): 680. (In Russian)
- 22 Ryzhov, A.E., Vitsenovsky, M.Yu., Sautkin, R.S. "Otsenka kollektorskikh svoystv karbonatnykh porod prirazlomnogo neftyanogo mestorozhdeniya [Evaluation of reservoir properties of carbonate rocks of the Prirazlomnoye oil field]." *Geology of oil and gas*. 4 (2012): 39-53. (In Russian)
- 23 Gurbanov, V.Sh., Zinalova, G.D. "Kollektorskiye svoystva karbonatnykh porod triasovykh otlozheniy yuzhnogo Mangistau [Reservoir properties of carbonate rocks of Triassic deposits of southern Mangistau]." *Bulletin of the Perm National Research Polytechnic University. Geology, oil and gas and mining*. 1, (2018): 17-2. (In Russian)
- 24 Sadeq, Q.M. "Porosity and Permeability analysis from well logs and core in fracture, vugy and intercrystalline carbonate reservoirs." *Aquaculture research and development*. 6 (2015): 1-5.
- 25 Ehrenberg, S., Nadeau, P.H. "Sandstone vs. carbonate petroleum reservoirs: A global perspective on porosity-depth and porosity-permeability relationships." *AAPG Bulletin*. 89 (2005): 435-445.

А.С. Машжан<sup>1,2</sup> , А.Ж. Измукан<sup>1\*</sup> , Д. Токтырова<sup>1</sup> ,  
А.С. Кистаубаева<sup>1</sup> , Н.К. Биркеланд<sup>2</sup> 

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

<sup>2</sup>Бергенский университет, Норвегия, г. Берген,

\*e-mail: izmukan@mail.ru

## СКРИНИНГ И ВЫДЕЛЕНИЕ СПОРООБРАЗУЮЩИХ ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ЖАРКЕНТСКОГО ТЕРМАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА

Целью данного исследования является скрининг и идентификация термофильных микроорганизмов из геотермального горячего источника города Жаркент Алматинской области, Казахстан. Филогенетическое разнообразие и скрининг прокариотического сообщества, процветающего в Жаркентском геотермальном горячем источнике, было изучено микробиологическими методами. Проведенное исследование подтвердило, что изоляты из геотермального горячего источника Жаркент являются истинными термофилами и могут быть источником термостабильных ферментов. По результатам культивирования изолятов на селективных средах три из восьми AC1W, AC1S, AC4S показали хорошую ферментативную активность. Выделенные термофильные бактерии были культивированы в различных условиях, таких как: температура (50, 60, 70, 80 и 95 °C), различные среды и (для продуцента амилазы, целлюлазы, липазы), различные значения pH (5, 6, 7, 8 и 10). Морфологические признаки выделенных штаммов бактерий были исследованы сканирующим электронным микроскопом (СЭМ).

Основываясь на данных биохимических тестов и морфологических характеристиках (эндоспорообразование, аэробы, положительная на каталазу и оксидазу, оптимальная температура роста – 75–85 °C и оптимальный диапазон pH роста – 7,5–8), выделенные изоляты были причислены к роду *Geobacillus*. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что в Жаркентском горячем источнике имеется богатое разнообразие термофильных микроорганизмов, которые должны быть исследованы для получения промышленно важных ферментов.

**Ключевые слова:** гипертермофилы, гидролаза, экстремозимы, изоляты.

A.S. Mashzhan<sup>1,2</sup>, A.Zh. Izmukan<sup>1\*</sup>, D. Toktyrova<sup>1</sup>,  
A.S. Kistaubaeva<sup>1</sup>, N.K. Birkeland<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>University of Bergen, Norway, Bergen,

\*e-mail: izmukan@mail.ru

### Screening and Isolation of Spore forming thermophilic Bacteria from Zharkent hot spring

The purpose of this study is screening and isolation of thermophilic microorganisms from a geothermal hot spring in Zharkent, Almaty region, Kazakhstan. The phylogenetic diversity and screening of the prokaryotic community thriving in Zharkent geothermal hot spring has been studied by microbiological methods. The study confirmed that isolates from Zharkent geothermal hot spring are true thermophiles according to experiments and can be a source of thermostable enzymes; three isolates (AC1W, AC1S, AC4S) out of eight showed good enzymatic characteristics based on the results of their cultivation on selective media. Isolated thermophilic microorganisms, were cultivated under different conditions, such as: temperature (50, 60, 70, 80, and 95°C), selective media (for the amylase, cellulase, and lipase producer), different pH (5, 6, 7, 8, and 10). Morphological features of the isolated bacterial strains were examined by scanning electron microscopy (SEM).

Based on the data of biochemical tests and morphological characteristics (endospore formation, aerobic, positive for catalase and oxidase, optimal growth temperature of 75–85 °C and the optimal pH range of growth is 7.5–8), isolated bacteria were presumably listed in the genus *Geobacillus*. Thus, our research has shown that there is a rich variety of thermophilic microorganisms in Zharkent hot springs, which must be studied to obtain commercially important enzymes.

**Key words:** hyperthermophiles, hydrolase, extremozymes, isolates.

А.С. Машжан<sup>1,2</sup>, А.Ж. Измұқан<sup>1\*</sup>, Д. Токтырова<sup>1</sup>,  
А.С. Кистаубаева<sup>1</sup>, Н. Биркеланд<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Берген Университеті, Норвегия, Берген қ.

\*e-mail: izmukan@mail.ru

### Жаркент геотермалды суынан термофилді бактерияларды бөліп алу

Зерттеудің мақсаты Қазақстан, Алматы облысының Жаркент қаласындағы геотермалды суынан термофильді микроорганизмдерді анықтау және сипаттау болып табылады. Жаркент геотермалды суында өркендеп жатқан прокариоттық қоғамдастықтың филогенетикалық әралуандылығын микробиологиялық әдістермен зерттелді. Жүргізілген зерттеу нәтижелері бойынша Жаркент геотермалды суынан бөліп алынған изоляттар шынайы термофилдер болып табылатындығын және термостабильды ферменттердің көзі болуы мүмкін екендігін растады; сегіз изоляттың үшеуі (AC1W, AC1S, AC4S) селективті орталарда жақсы ферментативті белсенділігін көрсетті. Температурасы (50, 60, 70, 80 және 95°C), әртүрлі қоректік орталары (амилаза продуценті, целлюлаза, липаза), әртүрлі рН (5, 6, 7, 8 және 10) сияқты әртүрлі селективті орталарда оқшауланған термофильді бактериялар өсірілді. Бөлініп алынған бактерия штамдарының морфологиялық белгілері сканерлеуші электронды микроскоппен (СЭМ) зерттелді.

Бұл зерттеу барысында жасалған биохимиялық тестілердің және морфологиялық сипаттамалардың (эндоспор түзілу, аэробтар, каталаза және оксидазаға оң, оптималды өсу температурасы 75-85 °С және рН өсуінің оптималды диапазоны 7,5-8) нәтижелері негізінде, бөлінген изоляттар *Geobacillus* түріне жорамалданды. Осылайша, біз жүргізген зерттеулер нәтижесі бойынша Жаркент геотермалды сулары, өнеркәсіптік маңызды ферменттерді алу үшін зерттелуі тиіс термофильді микроорганизмдердің бай алуан түрлілігі бар екенін көрсетті.

**Түйін сөздер:** гипертермофилдер, Жаркент геотермалды суы, гидролаза, экстремозимдер, изолят.

## Ведение

Термофильные микроорганизмы обитают при высокой температуре в горячих гидротермальных источниках, горячих источниках и морских гидротермах, и эти организмы не только выживают, но могут даже с легкостью размножаться в кипящей воде [1]. Наиболее известные и изученные районы с горячими источниками находятся в Исландии, США, Новой Зеландии, Японии, Италии, Индонезии, Центральной Америке и Центральной Африке [2-4]. Перспективной особенностью термальных источников является экология с ее разнообразием организмов [5] и молекулярной прочностью ее компонентов [6].

К термофильным микроорганизмам относятся ряд фототрофных бактерий (цианобактерии, зеленые и фиолетовые бактерии), бактериальных доменов (*Actinobacteria sp.*, *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, *Desulfotomaculum sp.*, *Thermus sp.*, *Thiobacillus sp.*, ферментирующие бактерии, спирохеты и многие другие виды) и доменов архей (*Pyrococcus sp.*, *Sulfolobus sp.*, *Thermococcus sp.*, *Thermoplasma sp.*) [7-9].

Термофилы имеют несколько механизмов для поддержания экстремальной температуры. Считается, что термостойкость клеточных ком-

понентов, таких как АТФ, аминокислоты и пептиды, могут превышать 250 °С, и это говорит о том, что максимальная температура для жизни превышает температуру, которую наблюдали до сих пор [10, 11].

Белки термофильных бактерий имеют ряд преимуществ в промышленности, способствуя более быстрой реакции, высокой растворимости субстрата, меньшему риску загрязнения системы, а также снижению вязкости раствора и повышению смешиваемости растворителя, в связи с чем выделенные термофильными бактериями белки являются более перспективными для производителей [12].

По статистике, более 500 продуктов производится с использованием ферментов, выделенных термофильными бактериями и около 150 промышленных процессов, получают преимущества от использования ферментов или катализаторов из микроорганизмов. Кроме того, известно более 3000 ферментов и около 65% из них – гидролазы, используемые в химической, текстильной, целлюлозно-бумажной и крахмальной промышленности, и почти 25% из них используются в пищевой промышленности [13, 14]. Исследования показывают, что разнообразие экстремофильных микроорганизмов может быть выше, чем мы ду-

маем [7, 15]. Однако физико-химическая характеристика ферментов и использование такого разнообразия усложняется в связи с трудностью выделения и выращивания этих микроорганизмов [13].

Алматинская область расположена в горной местности Южного Казахстана в предгорьях Заилийского Алатау на высоте 700-900 м (2300-3000 футов), где большие и малые реки Алматинки впадают в равнину. Этот регион Казахстана богат геотермальными горячими источниками, температура которых колеблется от 30 °С до 98 °С [16]. Микробное разнообразие горячих источников Алматинской области до сих пор не изучено. Поэтому целью настоящего исследования является выделение термофильных бактерий из одного геотермального горячего источника Алматинской области, определение термостойкости изолятов, скрининг ферментов промышленного назначения и изучение филогенетической принадлежности термофильных бактерий в сравнении с другими бактериальными изолятами, встречающимися в виде мезофилов, термофилов и гипертермофилов.

#### Материалы и методы исследования

Жаркентский геотермальный горячий источник расположен на 43° 97' 14.93"N, 79° 66' 12.09"E, 273 км. от города Алматы, не доходя до города Жаркент, в 80 км от границы с Китаем. Несколько скважин находятся в пределах города Жаркент, в впадинах урочища Жаркунак. Жаркунакское месторождение подземных вод является центральной частью Жаркентского геотермального источника, включающей скважины № 5539, 1-РТ. Все скважины расположены в пределах территории землепользования ТОО «Байсерек-Агро» (казахстанская компания) (рис. 1 А, Б). Из-за своей удаленности он менее подвержен влиянию человеческого вмешательства и имеет богатое микробное сообщество. В этой работе мы описали скважину под номером № 5533. Температура горячего источника в период отбора проб составляла 98 °С. рН был зафиксирован в диапазоне 7-8, что указывает на щелочную среду. Отбор проб проводился 19 января 2019 года. В 9.30 утра отбор проб проводили с помощью пробоотборника в стерильные пробирки по 50 мл. Общее количество взятых проб 100 мл, также около скважины № 5539 была собрана вода с небольшим количеством осадка в стерильную пробирку объемом 50 мл. Глубина взятия осадка 15 см (рис. 1 С). Пробирки доставили в лабора-

торию и хранили при температуре 4 °С в холодильнике до дальнейшей обработки.

Химический состав скважины № 5539 характеризуется как слабоминерализованный щелочной, умеренно радоновый, кремнистый преимущественно хлоридно-бикарбонатно-натриевый состав с высокой концентрацией содержания фтора. Характерными особенностями этой воды являются слабая минерализация (до 1,0 г/дм<sup>3</sup>), щелочная реакция (рН 8,1-9,0), высокое содержание фтора (до 10 мг/дм<sup>3</sup>), бальнеологически активная концентрация кремниевой кислоты (свыше 50 мг/дм<sup>3</sup>), наличие радона в концентрациях до 60 пСi/л, характерные для умеренно радоновых вод.

Анализ микроэлементов в воде помимо фтора выявил следующий состав (мг/дм<sup>3</sup>): бром – 0,35-0,42; кобальт – 0,003-0,01; медь – 0,002-0,004; молибден – 0,05-0,09; никель – 0,002-0,02; свинец – 0,002; кадмий – 0,001. Особенно отмечается присутствие селена в этой воде в концентрации 1-5 мкг/дм<sup>3</sup> [16].

Выделение бактерий. Образец воды из геотермального горячего источника разливался по пробиркам и затем маркировалась. Проба воды использовалась для обогащения в мясопептонном бульоне (HiMedia, Индия) при 80 °С, и в течение 3 суток обогащенную культуру разводили на питательном агаре (HiMedia, Индия) для получения отдельных колоний. Образец воды был использован для обогащения в питательном бульоне при температуре 80 °С в течение 3 дней. Обогащенную культуру нанесли на питательный агар для получения чистых колоний. Все бактериальные изоляты, полученные на чашках Петри, отбирали и очищали путем нанесения на одну и ту же среду не менее трех раз. Изоляты были определены как чистые после микроскопического наблюдения за одной морфологической культурой. Для предотвращения высыхания образцов во время инкубации использовались пластиковые морозильные пакеты, такие характеристики как чистота клеточной морфологии, их спорообразующая способность и подвижность изолятов проверяли с помощью микроскопии (Micros, Австрия) свежеприготовленных препаратов.

Определение термоустойчивости. Чистые культуры бактериальных изолятов были определены благодаря их термофильным характеристикам. Каждый бактериальный изолят был инокулирован в 10 мл жидкую питательную среду (HiMedia, Индия) в пробирке при 80 °С в течение 3 дней. После указанного инкубационного

периода каждую бульонную культуру бактерий высевали на свежеприготовленную питательную твердую среду (HiMedia, Индия) и 24 часа культивировали при 65 °С и 70 °С. Бактериальные изоляты, растущие в чашках Петри, отбирали

и повторно тестировали на термостойкость при более высокой температуре в пробирке при 80 °С в течение 3 суток. В итоге, для дальнейшего изучения были отобраны изоляты, которые могли переносить температуру 80 °С.



**Рисунок 1** – Расположение объекта исследования.

- А) Карта Казахстана с указанием местоположения города Жаркент.  
 В) Фотография горячего источника Жаркента с местом отбора проб.  
 С) отбор проб воды с песком (глубина взятия ила – 15 см)

Метаболическая и биохимическая характеристика изолятов. Были изучены изоляты термофильных бактерий по различным морфологическим признакам, а именно: цвет, окраска по Граму, форма, образование спор и подвижность. Было исследовано присутствие ферментов каталазы и оксидазы по методикам, описанным Прескоттом и др. [17], а также рассмотрены другие биохимические исследования, такие как фер-

ментация сахаров, образование  $H_2S$ , окисление Mn и Fe, облигатные аэробы, факультативные анаэробы.

Чистую колонию, выращенную в течение ночи, наносили на питательную среду с помощью петли и инкубировали при температуре 37 °С на протяжении 12-24 часов. Из инкубированной культуры был взят образец с помощью микробиологической петли, и добавили в сре-



ду, содержащую различные биохимические вещества, и инкубировали при соответствующей температуре в течение 12-24 часов. Наличие или отсутствие изменений в среде регистрировалось как положительный или отрицательный вывод, соответственно, и результаты для идентификации бактериальных изолятов обрабатывались согласно информации, предоставленной Холтом и др. [18].

Тест на подвижность. Подвижность бактерий наблюдалась в культуральных пробирках, содержащих полутвердые среды питательного агара, в состав которого входит казеиновый субстрат. Рост подвижных организмов в полутвердой среде наблюдался от линии прокола петли. Высоко подвижные организмы разрастались по всей пробирке. Однако, рост неподвижных организмов происходил только в зоне инокуляции [19].

Трёхсахарный железосодержащий тест (ТЖТ). Образование газа определяли с помощью скошенного ТЖТ агара (HiMedia, Индия), который состоит из смеси агара, рН-чувствительного красителя (Феноловый красный), 1% лактозы, 1% сахарозы, 0,1% глюкозы, тиосульфата натрия и сульфата железа [20]. Исследуемый бактериальный изолят прививался как зигзагообразными полосами наискось, так и точно протыкая петли. После 24 часов инкубации пробирок ТЖТ агара наблюдалось наличие сероводорода ( $H_2S$ ) и изменение цвета, которые интерпретируются по методу Шарма, в двух разных способах прививки [21]. На образование сероводорода указывало почернение среды ТЖТ.

Оптимизация условий роста. Для определения влияния температуры на рост изолятов микроорганизмы выращивались при различной температуре инкубации в диапазоне 50-95 °С с приращением 5 °С 24 часа. Более того, было изучено влияние рН на рост выделенного микроорганизма на основе выращивания организма на протяжении 24 часов при 80 °С в мясопептонной бульонной среде с различными показателями рН в диапазоне 4,0 – 9,0. Рост организмов измеряли путем определения оптической плотности. Оптическую плотность наблюдали на спектрофотометре (спектрофотометр PD-303, Arel, Япония) на длине волны 620 нм.

Оценка ферментативной продукции. Скрининг и идентификация ферментативной активности гидролаз в термофильных бактериях выполнялись с использованием различных источников углерода, таких как карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), картофельный крахмал, твин 80 и обезжиренное молоко.

Скрининг и идентификация производителей Целлюлазы. Десять микролитров культуры наносили точно на КМЦ-агар ( $NaNO_3$  – 2,0 г,  $K_2HPO_4$  – 1,0 г,  $MgSO_4$  – 0,3 г,  $KCl$  – 0,3 г, карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) – 0,2 г,  $NaCl$  – 0,1 г, пептон 1,0 г (HiMedia, Индия), бакто-агар – 15,0 г (г/л). Чашки Петри инкубировались 24 часа. После инкубации заливали йодом Грама (2,0 г  $KI$  и 1,0 г йода (HiMedia, Индия) в 300 мл дистиллированной воды) чашку Петри на 3-5 минут на основе работы Рамеша и др. [22]. Образование четкой зоны гидролиза указывало на деградацию целлюлозы как принято у Шайх и др. [23].

Скрининг и идентификация продуцентов амилазы. Скрининг продуцентов амилазы проводился по методу гидролиза крахмала. Микробные изоляты были инокулированы методом штриха в чашках Петри с крахмал-агаром (Триптон – 10,0 г, дрожжевой экстракт – 5,0 г,  $NaCl$  – 5,0 г, раствор крахмала (картофельный крахмал) – 1,0 г, бакто-агар – 15,0 г (Франция), (г/л) с последующей инкубацией на 24 часа. После инкубации чашки Петри с крахмал-агаром заливали 1%-ный раствор йода (HiMedia, Индия) (свежеприготовленный). Наличие синего цвета вокруг колонии указывало на отрицательный результат [24].

Скрининг и идентификация продуцентов липазы. Активность липазы наблюдали при появлении мутного диска вокруг инокулята на поверхности твердой среды, содержащей следующие компоненты (г/л): дрожжевой экстракт – 5,0 г, пептон – 10,0 г (HiMedia, Индия),  $NaCl$  – 5,0 г,  $CaCl_2 \cdot H_2O$  – 0,1 г,  $MgSO_4 \cdot H_2O$  – 0,3 г,  $KH_2PO_4$  – 0,3 г,  $K_2HPO_4$  – 0,3 г, агар – 15,0 г, г/л. Среду дополняли 1% Твином 80 (AppliChem, Германия) как было указано в работе Донг-Ву и др. [25].

Скрининг и идентификация продуцентов протеаз. Активность протеазы определяли на поверхности твердой среды, содержащей следующие элементы (г/л): обезжиренное молоко – 250 мл, глюкоза – 1,0 г, триптон (тип-I) – 5,0 г (HiMedia, Индия), дрожжевые экстракты – 2,5 г, агар – 15,0 г. На чашку Петри наносили изоляты с последующей 18 часовой инкубацией. Наличие прозрачной зоны вокруг колоний указывало на активность казеиназы как объяснялось в статье Халеда и др. [26].

Работа на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) выделенных бактерий. Морфологические признаки выделенных штаммов бактерий были дополнительно исследованы методом сканирующего электронного микроскопического (СЭМ) анализа при поддержке института ДГП

«ННЛОТ» КазНУ. Образец для СЭМ анализа готовили путем переноса микробных изолятов в чистую микропробирку, содержащую примерно 1,5 мл 3,5% раствора глутарового альдегида. Затем изоляты промывали фосфатным буфером (100 мм, рН 7,2). После изоляты обезвоживают с использованием спиртового градиента от 10 до 95%. Далее обезвоженные образцы высушивались на воздухе и закреплялись на углеродном носителе. Образец был покрыт тонким слоем серебра. Эти образцы затем наблюдались под сканирующим электронным микроскопом Raster electron microscope Quanta 3D 200i Dual system SEM (FEI Company, США).

### Результаты исследования и их обсуждение

Из всех проб, полученных из Жаркентского геотермального источника, всего было выделено 4 различных бактериальных изолятов. Дан-

ным изолятам назначили кодовые обозначения: AC1W, AC2W, AC3W, AC1S. На основании окрашивания по Граму было установлено, что все бактериальные изоляты относятся к неспорообразующим грамотрицательным бактериям.

Для определения морфологических и биохимических свойств были проведены различные идентификационные тесты: образование эндоспор, подвижность, каталаза и оксидаза, ферментация сахаров (глюкозы, сахарозы, лактозы), облигатный аэроб, факультативный анаэроб (табл. 1).

Исследуемые изоляты показали отрицательный результат на сероводородный тест, не были облигатными аэробами и не окисляли Fe и Mn. Однако положительную реакцию они показали на каталазную активность на гидролиз крахмала. Кроме того, хорошие ферментативные реакции они проявляли на различные сахара, оксидазу и были факультативными анаэробами.

Таблица 1 – Биохимическая характеристика бактериальных изолятов

Биохимические тесты	AC1W	AC2W	AC3W	AC1S
Сероводородный тест	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+
Оксидаза	+	0	+	+
Гидролиз крахмала	+	+	+	+
Ферментация сахаров	-	-	-	-
Глюкоза	-	-	-	-
Сахароза	-	+	+	+
Лактоза	-	+	+	+
Окисление Mn	-	-	-	-
Окисление Fe	-	-	-	-
Облигатный аэроб	+	-	-	-
Факультативный анаэроб	+	+	+	+
Подвижность	+	+	+	+
Образование эндоспор	+	+	+	+

+ указывает на положительный и – указывает на отрицательный тест; 0 – не определен

Полученные изоляты отличались по морфологическим характеристикам, а именно некоторые колонии бактерий были насыщенно окрашены в

бело-кремовый цвет, формы и структуры колоний были неравномерными, однако встречались и круглые колонии с ровными краями (табл. 2).

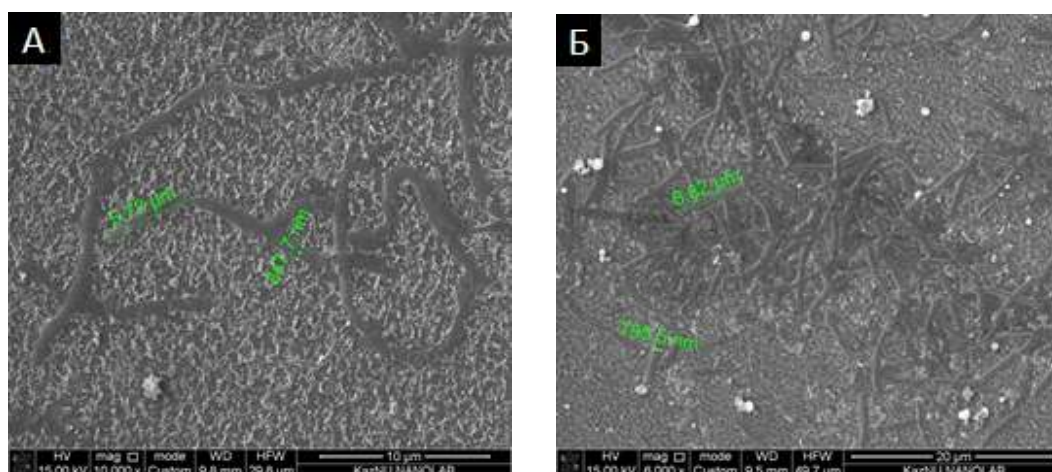
**Таблица 2** – Морфология колоний восьми изолятов, выделенных из Жаркентского геотермального источника

Изоляты	Светопроницаемость	Консистенция	Форма	Края	Выпуклость колонии	Цвет
AC1W	полупрозрачный	гладкая	неравномерная	волнистые	округлая	кремовый
AC2W	полупрозрачный	слизистая, гладкая	круглая	ровные	округлая	бело-кремовый
AC3W	полупрозрачный	слизистая, гладкая	круглая	ровные	плоская	кремовый
AC1S	полупрозрачный	гладкая	неравномерная	ровные	плоская	белый

Как видно из таблицы, колонии двух изолятов были с окраской кремового оттенка, точнее колонии AC2W и AC1S имели бело-кремовый оттенок и белый цвет, соответственно. Все колонии изолятов имеют полупрозрачное светопроницающее свойство. Колонии AC1W, AC1S имеют гладкую консистенцию, а AC2W, AC3W – не только гладкую консистенцию, но и слизистую. Так же таблица показывает, что форма колоний изолятов AC1W и AC1S неравномерная, когда у остальных

– круглая. Выпуклость колоний изолятов AC1W и AC2W округлая, а у остальных двух – плоская. Все края колоний изолятов ровные, кроме изолята AC1W, который имеет волнистые края. Многие колонии казались мелко сморщенными и прилипшими к поверхности агара.

Морфологические характеристики всех изолятов были исследованы с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). СЭМ некоторых изолятов представлена на Рис. 2.



**Рисунок 2** – Сканирующая электронная микрофотография изолятов. А) AC1W (10,000X), В) AC2W (30,000X)

Из снимка видно, что бактериальные изоляты AC1W, AC2W имели палочковидную форму. Сканирование проводилось в диапазоне 6,000X -36,556X.

Влияние различных температур и pH на рост. Было установлено, что все бактериальные штаммы хорошо растут при щелочном pH, так как pH горячего геотермального источника имеет щелочную природу. Влияние pH на ростовой профиль всего штамма было показано на рис. 3.

Рисунок 4 показывает влияние температуры на рост четырех микробных изолятов.

Скрининг на термостойкость микробных изолятов был проведен при различных температурах, начинающихся с 40 °С до 95 °С. Для изолятов AC1W, AC3W оптимальная температура составляла 70 °С, а максимальная и минимальная – 95 °С и 45 °С соответственно, а для изолятов AC2W, AC1S оптимальная температура – 65 °С, а максимальная и минимальная – 95 °С и 40 °С.

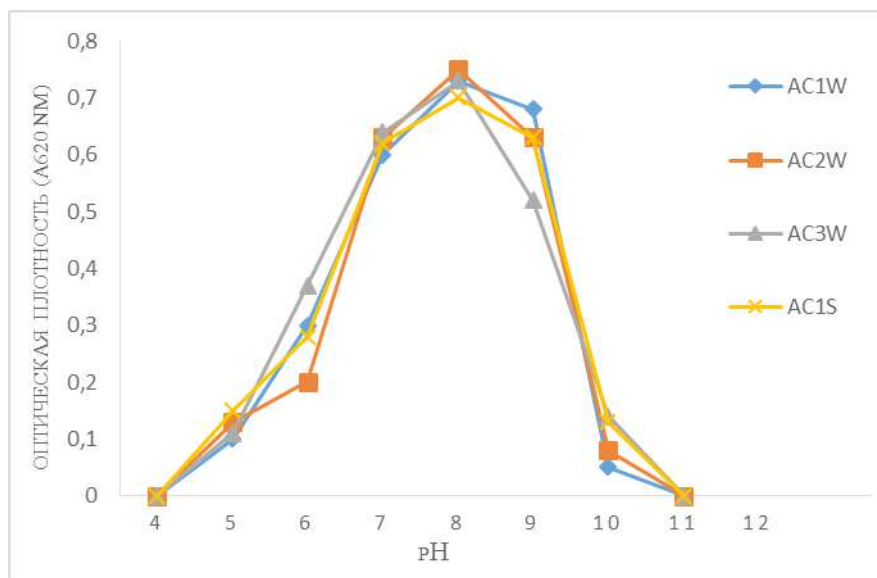


Рисунок 3 – Влияние pH на рост микробных изолятов

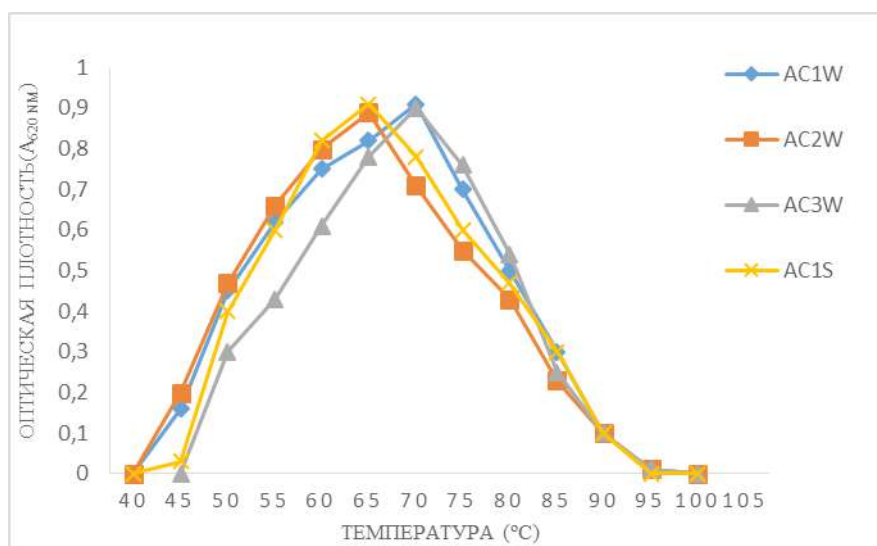


Рисунок 4 – Влияние температуры на рост микробных изолятов

Далее определялась способность изолятов на производства внеклеточных ферментов. Бактериальные изоляты, собранные из горячего источника, подвергались скринингу на амилазную, протеазную, липазную и целлюлозную активность (рис. 5). По крайней мере, два внеклеточных гидролитических фермента были эффективно продуцированы каждым из четырех идентифицированных изолятов (табл. 3 и 4).

Как видно из таблицы 3 и 4, выделенные изоляты производили амилазу, протеазу, цел-

люлозу и липазу. AC3W и AC1S выделяют большое количество протеазы, тогда как AC1W и AC2W изоляты отличаются значительной липазной активностью. Самую высокую целлюлазную активность показывает AC1W ( $34 \pm 6,1$  мм), а самый низкий показатель продуцирования целлюлазы имеет AC1S ( $8 \pm 1,3$  мм), как видно из таблицы 4. Также из таблицы 4 можно заметить, что AC2W имеет доминирующий показатель по амилазной активности ( $33 \pm 5,2$  мм).



**Рисунок 5** – Ферментативная активность изолятов, выделенных из Жаркентского геотермального горячего источника

**Таблица 3** – Ферментативная активность бактериальных изолятов, полученных из образцов

Изоляты	Оптимальная температура	Протеазная активность	Липазная активность
AC1W	70	±	+
AC2W	65	±	+
AC3W	70	+	±
AC1S	65	+	±

Символы: (–) отсутствие активности; ± незначительная активность; + хорошая активность

**Таблица 4** – Диаметры зон гидролиза бактериальных изолятов, полученных из образцов

Изоляты	Оптимальная температура	Целлюлазная активность	Амилазная активность
AC1W	70	34±6,1	14±2,3
AC2W	65	27±4,1	33±5,2
AC3W	70	13±2,2	9±0,52
AC1S	65	8±1,3	9±0,66

Символы: (мм); (–) отсутствие активности; ± корреляция

Таким образом, по результатам исследования нами были выделены 4 изолята термофильных бактерий, которые при высокой температуре способны производить экстремозимы и оставаться при этом термостабильными и активными. Такого рода штаммы на сегодняшний день представляют огромный интерес для промышленности Казахстана.

### Выводы

Актуальность использования в различных промышленных и биотехнологических процессах микробных гидролаз, способных функционировать при экстремальных условиях, на

сегодняшний день является приоритетным направлением. В работе были исследованы бактериальные изоляты из Жаркентского горячего геотермального источника, которые способны проявлять высокую гидролитическую активность на селективных средах и обозначенных как AC1W, AC2W, AC3W, AC1S. Все выделенные 4 изолята были идентифицированы по биохимическим характеристикам с помощью различных селективных сред и по морфологическим характеристикам с помощью светового микроскопа и сканирующего электронного микроскопа. Основываясь на результатах биохимических тестов, проведенных в данном исследовании (эндоспорообразование, аэробы, положительная на ката-

лазу, оптимальная температура роста 65 – 70°C и оптимальный диапазон pH роста 7,5 – 8), и на классификации детерминативной бактериологии Берджи, все изоляты AC1W, AC2W, AC3W, AC1S были отнесены к роду *Geobacillus*. *Geobacillus* – необычайно широкий таксон, содержащий преимущественно аэробные эндоспорообразующие палочки [27, 28]. Статья Назины и др. [28] показала, что род *Geobacillus* и его термофильные представители широко распространены в горячих источниках.

Исследование показало, что Жаркентские горячие источники являются богатым источником многих термофильных микроорганизмов. Поэтому необходимо исследовать данные микроорганизмы для промышленно важных ферментов путем дальнейших исследований микробиоло-

гических аспектов и метагеномики для изучения некультивированных организмов. Дальнейшее изучение данных изолятов позволит сделать огромный вклад в различные экстремальные промышленности и в биотехнологические процессы.

#### Конфликт интересов

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

#### Финансирование

Исследование проводилось при финансовой поддержке EURASIA Project Development Funding CPEA-PD-2017/10012.

#### Литература

- 1 Ambika V., Monika G., Poonam S. Isolation and characterization of thermophilic bacteria in natural hot water springs of Himachal Pradesh (India) // *The Bioscan J.* – 2014. – Vol. 9, №3 – P. 947-952.
- 2 Maugeri T. L., Gugliandolo C., Caccamo D., Stackebrandt E. A polyphasic taxonomic study of thermophilic bacilli from shallow, marine vents // *Systematic and Applied Microbiology.* – 2011. – Vol. 24, №4. – P. 572–587.
- 3 Boomer S. M., Noll K. L., Geesey G. G., Dutton B. E. Formation of multilayered photosynthetic biofilms in an alkaline thermal spring in Yellowstone national Park, Wyoming // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2009. – Vol. 75, №8. – P. 2464–2475.
- 4 Baltaci M. O., Genc B., Arslan S., Adiguzel G., Adiguzel A. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Geothermal Areas in Turkey and Preliminary Research on Biotechnologically Important Enzyme Production // *Geomicrobiology Journal.* – 2017. – Vol. 34, №1. – P. 53–62.
- 5 Adiguzel A., Inan K., et al. Molecular diversity of thermophilic bacteria isolated from Pasinler hot spring (Erzurum, Turkey) // *Turkish Journal of Biology.* – 2011. – Vol. 35, №3. – P. 267–274.
- 6 Genc B., Nadaroglu H., Adiguzel A., Baltaci O. Purification and characterization of an extracellular cellulase from *Anoxybacillus gonensis* O9 isolated from geothermal area in Turkey // *Journal of Environmental Biology.* – Vol. 36, №6. – P. 1319–1324.
- 7 Pikuta, E.V., Hoover, R.B., Tang, J. Microbial extremophiles at the limits of life // *Crit. Rev. Microbiol.* – 2007. – Vol. 33. – P. 183–209.
- 8 Rothschild L.J., Mancinelli R.L., Life in extreme environments // *Nature.* – Vol. 409. – P. 1092–1101.
- 9 Stetter K.O., History of discovery of hyperthermophiles. In *Extremophiles Handbook*; Horikoshi K., Antranikaian G., Bull A.T., Robb F.T., Stetter K.O. // Eds. Springer, – P. 404–426.
- 10 Fushida S., Mizuno Y., Masuda H., Toki T., Makita H., Concentrations and distributions of amino acids in black and white smoker fluids at temperatures over 200 °C // *Org. Geochem.* – 2014. – Vol. 66. – P. 98–106.
- 11 White R.H., Hydrolytic stability of biomolecules at high temperatures and its implication for life at 250 degrees C // *Nature.* – 1984. – Vol. 310, №2. – P. 430–432.
- 12 Liszka M.J., Clark M.E., Schneider E., Clark D.S. Nature versus nurture: Developing enzymes that function under extreme conditions // *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* – 2012. – Vol. 3. – P. 77–102.
- 13 Adrio J.L., Demain A.L. Microbial enzymes: Tools for biotechnological processes // *Biomolecules.* – 2014. – Vol. 4. – P. 117–139.
- 14 Binod P., Palkhiwala P., Gaikawai R., Nampoothiri K.M., Duggal A., Dey K., Pandey A. Industrial enzymes—Present status and future perspectives for India // *J. Sci. Ind. Res. India.* – 2013. – Vol. 72, №5. – P. 271–286.
- 15 Kumar L., Awasthi G., Singh B. Extremophiles: A novel source of industrially important enzymes // *Biotechnol. Appl. Biochem.* – 2011. – Vol. 2 №10. – P. 1–15.
- 16 Мендебаев Т.Н. Геотермальная энергетика. Ресурсы в Казахстане и технологическая схема их освоения // *Новости науки Казахстана.* – 2017. – №3. – С. 57-67.
- 17 Prescott L. M., Harley G. P., and Klein D. E. *Microbiology* // W. Brown Publishers, Dubuque, Iowa, USA. – 1993. – Vol. 2. – P. 588-591.
- 18 Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. and Staley J.T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Nineteenth edition // Williams and Wilkins company, Baltimore, MD, USA. – 1994. – P: 255-273.



- 19 Murray P.R., Baron E.J., Jorgenson J.H., Landry M.L. and Pfaller M.A. Manual of clinical microbiology // American society for microbiology, Washington, DC. – 2007. – № 9. – P.1-10
- 20 Harley J.P. and Prescott L.M. Laboratory Exercise in Microbiology 5th ed // The McGraw–Hill Companies. –2002. – P. 1-466.
- 21 Sharma K. Manual of Microbiology: Tools and Techniques. 2nd ed. //Ane Books India, New Delhi. – 2007.
- 22 Ramesh Ch. K., Richa S. et al. Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine // Curr Microbiol. – 2008.- – Vol. 57, №10. – P.503-507.
- 23 Shaikh N.M., Patel A. A., Mehta S. A., Patel N. D. Isolation and screening of cellulolytic bacteria inhabiting different environment and optimization of cellulose production // Universal Journal of Environmental Research and Technology. – 2013. – Vol. 3. – P. 39–49.
- 24 Blasam T. M., Hala I., Al D., Atef J., Saleh AL., Christian K. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential Producers of Thermostable Enzymes // Inter. J. of Microbiology. – 2017. – P. 1-12.
- 25 Dong-Woo L., You-Seok K., Ki-Jun K., et al. Isolation and characterization of a thermophilic lipase from *Bacillus thermoleovorans* ID-1 // FEMS Microbiology Letters. – 1999. – Vol. 179. – P. 393 – 400.
- 26 Khaled E. El-Gayar, Mohamed A., Al Abboud and Ashraf M. M. Essa. Characterization of Thermophilic Bacteria Isolated from two Hot Springs in Jazan, Saudi Arabia // Journal of Pure and Applied Microbiology. – 2017. – Vol.11, №2. – P. 1-10.
- 27 Logan, N.A. & Berkeley, R.C.W. Identification of *Bacillus* strains using the API system // Journal of General Microbiology. –1984. – Vol. 130. – P. 1871–1882.
- 28 Nazina T.N., Tourova T.P., Poltarau A.B., et.al. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. thermodenitrificans* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2001. – Vol. 51. – P. 433–446.

## References

- 1 Ambika, V., Monika, G., Poonam, S. “Isolation and characterization of thermophilic bacteria in natural hot water springs of Himachal Pradesh (India).” *The Bioscan J.* 9, 3 (2014): 947-952.
- 2 Maugeri, T. L., Gugliandolo, C., Caccamo, D., Stackebrandt, E. “A polyphasic taxonomic study of thermophilic bacilli from shallow, marine vents.” *Systematic and Applied Microbiology* 24, 4 (2011): 572–587.
- 3 Boomer, S. M., Noll, K. L., Geesey, G. G., Dutton, B. E. “Formation of multilayered photosynthetic biofilms in an alkaline thermal spring in Yellowstone national Park, Wyoming.” *Applied and Environmental Microbiology* 75, 8 (2009): 2464–2475.
- 4 Baltaci, M. O., Genc, B., Arslan, S., Adiguzel, G., Adiguzel, A. “Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Geothermal Areas in Turkey and Preliminary Research on Biotechnologically Important Enzyme Production.” *Geomicrobiology Journal* 34, 1 (2017): 53–62.
- 5 Adiguzel, A., Inan, K., et al. “Molecular diversity of thermophilic bacteria isolated from Pasinler hot spring (Erzurum, Turkey).” *Turkish Journal of Biology* 35, 3 (2011): 267–274.
- 6 Genc, B., Nadaroglu, H., Adiguzel, A., Baltaci, O. “Purification and characterization of an extracellular cellulase from *Anoxybacillus gonensis* O9 isolated from geothermal area in Turkey.” *Journal of Environmental Biology* 36, 6 (2015): 1319–1324.
- 7 Pikuta, E.V., Hoover, R.B., Tang, J. “Microbial extremophiles at the limits of life.” *Crit. Rev. Microbiol* 33 (2007): 183–209.
- 8 Rothschild, L.J., Mancinelli, R.L. “Life in extreme environments.” *Nature* 409 (2001): 1092–1101.
- 9 Stetter, K.O. “History of discovery of hyperthermophiles.” In *Extremophiles Handbook*, edited by Horikoshi K., Antrankai G., Bull A.T., Robb F.T., Stetter K.O., 404–426. Tokyo: Springer, 2011.
- 10 Fushida, S., Mizuno, Y., Masuda, H., Toki, T., Makita, H. “Concentrations and distributions of amino acids in black and white smoker fluids at temperatures over 200 °C.” *Org. Geochem* 66 (2014): 98–106.
- 11 White, R.H. “Hydrolytic stability of biomolecules at high temperatures and its implication for life at 250 degrees C.” *Nature* 310, 2 (1984): 430–432.
- 12 Liszka, M.J., Clark, M.E., Schneider, E., Clark, D.S. “Nature versus nurture: Developing enzymes that function under extreme conditions.” *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 3 (2012): 77–102.
- 13 Adrio, J.L., Demain, A.L. “Microbial enzymes: Tools for biotechnological processes.” *Biomolecules* 4 (2014): 117–139.
- 14 Binod, P., Palkhiwala, P., Gaikawari, R., Nampoothiri, K.M., Duggal, A., Dey, K., Pandey, A. “Industrial enzymes—Present status and future perspectives for India.” *J. Sci. Ind. Res. India* 72, 5 (2013): 271–286.
- 15 Kumar, L., Awasthi, G., Singh, B. “Extremophiles: A novel source of industrially important enzymes.” *Biotechnol. Appl. Biochem* 2, 10 (2011): 1–15.
- 16 Mendibaev, T.N. “Geothermalnaja energija. Resursi v Kazakhstane i tehnologijeskaja sxema ix osvoenie [Geothermal energy. Resources in Kazakhstan and technological scheme of their development].” *Science News of Kazakhstan* 3 (2017): 57-67.
- 17 Prescott, L. M., Harley, G. P., and Klein, D. E. “*Microbiology*.” 2, p. 588-591. Dubuque, Iowa: W. Brown Publishers, 1993.
- 18 Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A. and Staley, J.T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9. Baltimore, MD: Williams and Wilkins company, 1994.

- 19 Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgenson, J.H., Landry, M.L. and Pfaller, M.A. “*Manual of clinical microbiology*” 9, p.1-10. Washington, DC: American society for microbiology, 2007.
- 20 Harley, J.P. and Prescott, L.M. *Laboratory Exercise in Microbiology* 5, p. 1-466. New York, NY: The McGraw–Hill Companies, 2002.
- 21 Sharma, K. *Manual of Microbiology: Tools and Techniques*. 2. New Delhi: Ane Books, 2007.
- 22 Ramesh, Ch. K., Richa, S. et al. “Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram’s Iodine.” *Curr Microbiol* 57, 10 (2008): 503-507.
- 23 Shaikh, N.M., Patel, A.A., Mehta, S.A., Patel, N.D. “Isolation and screening of cellulolytic bacteria inhabiting different environment and optimization of cellulose production.” *Universal Journal of Environmental Research and Technology* 3 (2013): 39–49.
- 24 Blasam, T. M., Hala, I., Al, D., Atef, J., Saleh, AL., Christian, K. “Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential Producers of Thermostable Enzymes.” *Inter. J. of Microbiology* (2017): 1-12.
- 25 Dong-Woo, L., You-Seok, K., Ki-Jun, K., et al. “Isolation and characterization of a thermophilic lipase from *Bacillus thermoleovorans* ID-1.” *FEMS Microbiology Letters* 179 (1999): 393 – 400.
- 26 Khaled, E. El-Gayar, Mohamed, A. Al Abboud, Ashraf, M. M. Essa. “Characterization of Thermophilic Bacteria Isolated from two Hot Springs in Jazan, Saudi Arabia.” *Journal of Pure and Applied Microbiology* 11, 2 (2017): 1-10.
- 27 Logan, N.A., Berkeley, R.C.W. “Identification of *Bacillus* strains using the API system.” *Journal of General Microbiology* 130 (1984): 1871–1882.
- 28 Nazina, T.N., Tourova, T.P., Poltarau, A.B., et.al. “Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. thermodenitrificans*.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51 (2001): 433–446.

**Э.Р. Файзулина\*, С.А. Айткельдиева, Л.Г. Татаркина, М.Б. Алимжанова,  
А.В. Алимбетова, О.Н. Ауэзова, Г.А. Спанкулова**

ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и  
вирусологии», Казахстан, г. Алматы,  
\*e-mail: elmira\_f@mail.ru

## **СОЗДАНИЕ КОНСОРЦИУМОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ЭФФЕКТИВНО ДЕГРАДИРУЮЩИХ ИЗОМЕРЫ КСИЛОЛА**

В связи с серьезной опасностью для окружающей среды и здоровья человека ароматические углеводороды в последнее время стали объектом всесторонних исследований. Они могут легко распространяться в почвах и грунтовых водах в результате процесса добычи нефти, протекания резервуаров, а также из-за проблем, возникающих при транспортировке на большие расстояния. Поэтому их удаление является причиной возникновения экологических проблем. Биологические способы очистки природной среды наиболее безопасны, эффективны и менее затратны по сравнению с методами химической и физической очистки. В настоящее время большинство усилий направлено на поиск бактериальных сообществ, способных минерализовать загрязнители в менее вредные, неопасные соединения. При этом применение консорциумов может еще больше повысить эффективность разложения углеводородов, поскольку они обладают множественными метаболическими возможностями. Ранее из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана нами были выделены углеводородоокисляющие микроорганизмы, способные окислять о-ксилол. Целью данной работы было создание бактериальных консорциумов и изучение эффективности деградации смеси изомеров ксилола. Методом полунепрерывного культивирования получены варианты штаммов с повышенным окислительным потенциалом. Проверена их способность расти на м- и п-ксилоле. На основе отобранных активных штаммов углеводородоокисляющих бактерий созданы консорциумы, эффективно деградирующие смесь трех изомеров ксилола. Через 24 ч культивирования ксилолоокисляющих консорциумов остаточное содержание о-ксилола в среде составило 6,1-12,7%, м-ксилола – 4,5-10,2%, п-ксилола – 10,2-20,2%. Наибольшую активность показал консорциум 8 (*B. megaterium* 1/1 ач, *B. thuringiensis* 2/4 фл, *B. tropicus* 2/6 фл, *B. megaterium* П1-фл1-5), который утилизировал 89,8-95,5% исследуемых субстратов.

**Ключевые слова:** биodeградация, углеводородоокисляющие бактерии, консорциум, изомеры ксилола.

E.R. Faizulina\*, S.A. Aitkeldiyeva, L.G. Tatarkina, M.B. Alimzhanova,  
A.V. Alimbetova, O.N. Auezova, G.A. Spankulova

LLC "Research and Production Center for Microbiology and Virology", Kazakhstan, Almaty,  
\*e-mail: elmira\_f@mail.ru, ecomicrolab@gmail.com

### **Creation of consortia of hydrocarbon-oxidizing microorganisms effectively degrading xylene isomers**

Due to the serious danger to the environment and human health, aromatic hydrocarbons have recently become the subject of extensive research. They can easily spread in soils and groundwater as a result of the oil production process, leaking tanks and problems encountered during transportation over long distances. Therefore, their removal is one of the most important environmental problems. Biological methods of purification of the natural environment are the safest, most effective and less expensive in comparison with the methods of chemical and physical purification. Currently, most efforts are aimed at finding bacterial communities capable of mineralizing pollutants into less harmful, non-hazardous compounds. Moreover, the use of consortia can further increase the efficiency of decomposition of hydrocarbons, since they have multiple metabolic capabilities. Earlier, we isolated hydrocarbon-oxidizing microorganisms capable of oxidizing o-xylene from oil-contaminated soils of Western Kazakhstan. The aim of this work was the creation of bacterial consortia, and study the efficiency of degradation of xylene isomer mixture. By the method of semi-continuous cultivation, variants of strains with increased oxidative potential were obtained. Their ability to grow on m- and p-xylene was tested. Based on selected

active strains of hydrocarbon-oxidizing bacteria there have been created consortia which effectively degrade xylene isomers. After 24 h of cultivation of xylene oxidizing consortia, the residual content of o-xylene in the medium was 6.1-12.7%, m-xylene – 4.5-10.2%, p-xylene – 10.2-20.2%. The highest activity was shown by the consortium 8 (*B. megaterium* 1/1 an, *B. thuringiensis* 2/4 fl, *B. tropicus* 2/6 fl, *B. megaterium* P1-fl1-5), which utilized 89.8-95.5% test substrates.

**Key words:** biodegradation, hydrocarbon-oxidizing bacteria, consortium, xylene isomers.

Э.Р. Файзулина\*, С.А. Айткельдиева, Л.Г. Татаркина, М.Б. Алимжанова,  
А.В. Алимбетова, О.Н. Ауэзова, Г.А. Спанкулова

«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік  
орталығы» ЖШС, Қазақстан, Алматы қ.,

\*e-mail: elmira\_fm@mail.ru

### Ксилол изомерлерін тиімді ыдырататын көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің консорциумдарын құру

Қоршаған ортаға және адам денсаулығына айтарлықтай қауіп төндіретіндіктен, хош иісті көмірсутектер соңғы кездері жан-жақты зерттеу тақырыбына айналды. Олар мұнай өндіру процесі, резервуарлардың ағуы және ұзақ қашықтыққа тасымалдау кезінде кездесетін мәселелер нәтижесінде топырақ пен жер асты суларында оңай таралуы мүмкін. Сондықтан оларды жою ең маңызды экологиялық мәселелердің бірі болып табылады. Табиғи ортаны тазартудың биологиялық әдістері химиялық және физикалық тазарту әдістерімен салыстырғанда ең қауіпсіз, тиімді және шығыны аз. Қазіргі уақытта көп күш ластағыш заттарды аз зиянды, қауіпті емес қосылыстарға минералдандыруға қабілетті бактериялық қауымдастықтарды табуға бағытталған. Сонымен қатар, консорциумдарды қолдану көмірсутектердің ыдырау тиімділігін одан әрі арттыра алады, өйткені олар көптеген метаболиттік мүмкіндіктерге ие. Бұрын біз Батыс Қазақстанның мұнаймен ластанған топырағынан о-ксилолды тотықтыруға қабілетті көмірсутектотықтырғыш микроағзаларды бөліп алдық. Бұл жұмыстың мақсаты бактериялық консорциум құру және ксилол изомерлері қоспасының ыдырату тиімділігін зерттеу болды. Жартылай үздіксіз өсіру әдісімен жоғары тотықтыру мүмкіндігі бар штамдардың нұсқалары алынды. Олардың м- және п-ксилолда өсу қабілеті тексерілді. Көмірсутектотықтырғыш бактериялардан таңдап алынған белсенді штамдар негізінде, үш ксилол изомерлерінің қоспасын тиімді ыдырататын консорциумдар құрылды. 24 сағаттан кейін ксилолтотықтырғыш консорциумдар өсірілген қоректік ортадағы қалдық мөлшері о-ксилол 6,1-12,7%, м-ксилол – 4,5-10,2%, п-ксилол – 10,2-20,2% құрады. Ең жоғары белсенділікті 8-ші қауымдастық (*B. megaterium* 1/1 an, *B. thuringiensis* 2/4 фл, *B. tropicus* 2/6 фл, *B. megaterium* П1-фл1-5) көрсетті, яғни 89,8-95,5% зерттелген субстраттарды ыдыратқан.

**Түйін сөздер:** биодеградация, көмірсутектотықтырғыш бактериялар, консорциум, ксилол изомерлері.

## Введение

Одной из острых экологических проблем современности является загрязнение экосистем ароматическими углеводородами, которые представляют собой органические соединения бензольного ряда, различаются по числу бензольных колец и способами их присоединения. В настоящее время интенсивный рост промышленности вызывает загрязнение окружающей среды выбросами токсичных соединений в атмосферу и сливами сточных вод в водоемы. Наиболее распространенными загрязняющими почву и водные ресурсы веществами являются моноароматические углеводороды. К ним относятся бензол, толуол, этилбензол и изомеры ксилола (БТЭК). Диметилбензолы или ксилолы – углеводороды ароматического ряда, состоящие из бензольного кольца и двух метильных

групп. Существуют три изомера: *орто*-, *мета*- и *пара*-ксилол. [1, 2, 3]. Нефтяные углеводороды и соединения БТЭК легко переносятся в подземные воды. Основными источниками их эмиссии в окружающую природную среду являются предприятия энергетического комплекса, автомобильный транспорт, химическая и нефтеперерабатывающая промышленности, промышленные отходы, утечки, неправильная утилизация и аварии при транспортировке нефти, резервуары для хранения, аэропорты, лакокрасочные производства, и железнодорожные станции. Бензол, толуол, ксилол и стирол так же образуются в процессе демонтажа и сжигания электронных отходов и составляют более 50 мас.% водорастворимой бензиновой фракции [4, 5, 6, 7]. Кроме того, ароматические углеводороды широко используются при производстве пластмасс, смол, пигментов, лаков, красителей, моющих средств,

пестицидов и фармацевтических препаратов. Ксилолы применяются как растворители лаков, мастик и др., используют в синтезе красителей. *Пара*-ксилол применяется как сырьё для синтеза терефталевой кислоты – полупродукта для получения полиэтилентерефталата. *Орто*-ксилол используется в производстве диоктилфталатов и других эфиров фталевой кислоты. Как загрязнитель он чаще всего встречается вокруг объектов нефтехимической промышленности и производств синтетических химикатов [8].

Утилизация сточных вод, содержащих ароматические углеводороды, без надлежащей очистки оказывает негативное влияние на окружающую среду. Все эти органические соединения являются опасными загрязнителями и нелегко разлагаются. Из-за их относительно высокой растворимости они подвижны с потоком грунтовых вод и образуют шлейфы загрязнения в водоносных горизонтах. Они встречаются практически повсюду, но около 90% экологической нагрузки приходится на почвы [9, 10, 11].

БТЭК создают серьезную угрозу для здоровья населения, поскольку обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами. Эти соединения классифицированы Агентством США по охране окружающей среды (USEPA) как приоритетные загрязнители окружающей среды [12]. Например, бензол считается тератогенным, канцерогенным и мутагенным [13]. Хотя толуол и ксилол еще не были классифицированы как канцерогены, было сообщено о росте заболеваемости раком прямой и толстой кишки среди населения, подвергшегося воздействию этих соединений [14]. *О*-ксилол может вызывать усталость, спутанность сознания, головную боль, головокружение и даже смерть [15]. Агентство по охране окружающей среды США установило максимально допустимый уровень концентрации *о*-ксилола в 10 ppm [13]. Кроме того, эти летучие органические соединения могут вступать в реакцию с оксидами азота в присутствии солнечного света с образованием озона и пероксиацетилнитрата, что снижает качество воздуха [16].

В связи с серьезной опасностью для окружающей среды и здоровья человека ароматические углеводороды стали в последнее время объектом всесторонних исследований. Актуальным направлением среди них является микробиологическая деградация этих соединений, что обусловливается перспективностью использования микроорганизмов для очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Биodeградация

является эффективной и экологически чистой технологией для восстановления загрязненных участков в аэробных, микроаэробных и анаэробных условиях [17, 18, 19] и, как правило, более экономически целесообразна и энергетически достаточна, чем любые альтернативные процессы физической и химической очистки [3, 20].

Обычно для биоразложения моноароматических соединений используют аэробные биологические методы. Однако известны и анаэробные биологические методы, которые являются перспективными из-за ряда преимуществ, в том числе высокой способности разрушать концентрированные органические загрязнители, меньшей выработки ила, низкого потребления энергии и производства биогаза (метана), который рассматривается как источник энергии [21, 22, 23]. Saghafi, S. с соавт. получили хорошие результаты при исследовании периодической культуры *P. putida* с целью применения ее для биodeградации БТЭК [24]. Одним из основных недостатков анаэробного метода является медленный рост анаэробных микроорганизмов.

Подбор оптимальных условий для культивирования микроорганизмов может ускорить образование биопленки и улучшить деградационную способность [25; 26]. Для разработки экономически эффективных и надежных биореакторов для очистки загрязненных подземных вод и промышленных стоков необходимо точное определение кинетики биоразложения [27]. Следовательно, выделение и характеристика целевых бактериальных штаммов будут наиболее важными для биоремедиации токсичных соединений. Yu Jianming с соавт. выделили из активного ила фармацевтического завода новую бактерию, которая может разлагать *о*-ксилол. Изолят был идентифицирован как *Zoogloearesiniphila*. Были проведены исследования условий и кинетики роста для определения характеристик деградации *о*-ксилола. Затем, на основании измерения активности особого фермента и обнаружения промежуточных соединений во время разложения был предложен новый метаболический путь для *о*-ксилола. Такие результаты предоставили фундаментальные данные и теоретическое руководство для дальнейшего применения изолята в биоремедиации *о*-ксилола [28].

Поскольку в Казахстане высокими темпами развивается нефтегазовая промышленность, проблема загрязнения окружающей среды ароматическими углеводородами стоит весьма остро. В связи с этим весьма актуальным является поиск активных штаммов микроорганизмов-деструк-

торов ароматических углеводородов, обитающих в определенных эколого-географических условиях, создание на их основе консорциумов и их использование в процессах биоремедиации загрязненной окружающей среды.

В природных условиях микроорганизмы образуют консорциумы, составляя единую цепь окисления углеводородов нефти. Каждый из микроорганизмов консорциума, обладая специфическими ферментными системами, направленными на использование определенного субстрата (как самих углеводородов, так и их производных), использует данный субстрат в своем метаболизме. Поэтому при совместном воздействии микроорганизмов консорциума происходит извлечение, как большего количества, так и более широкого спектра нефтяных углеводородов [29, 30].

Целью данной работы явился подбор консорциумов углеводородокисляющих микроорганизмов, эффективно деградирующих изомеры ксилола.

### Материалы и методы

Повышение окислительного потенциала отобранных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов проводили методом полунепрерывного культивирования. В колбы с 200 мл минеральной среды Ворошиловой-Диановой (ВД) вносили по 10 мл суспензии клеток активных штаммов углеводородокисляющих бактерий и добавляли по 500 мкл о-ксилола и культивировали на шейкере при 180 об/мин. Через каждые 7 дней в течение месяца из колб отливали по 100 мл культуральной жидкости и добавляли такое же количество свежей минеральной среды и субстрат. Через месяц культивирования из колб делали высевы на твердую питательную среду в чашки Петри. Для дальнейших исследований отбирали по несколько вариантов колоний.

Изучение роста полученных вариантов штаммов проводили в жидкой минеральной среде ВД с о-ксилолом в качестве единственного источника углерода и энергии. В колбы со 100 мл среды ВД вносили по 5 мл суспензии клеток. О-ксилол добавляли в количестве 5 мл/л. Способность к росту оценивали по изменению оптической плотности культуральной жидкости на спектрофотометре PD-303 (Япония) при длине волны 540 нм.

Способность отобранных штаммов потреблять изомеры ксилола оценивали визуально по интенсивности роста (отсутствие роста, слабый, умеренный, хороший) на агаризованной мине-

ральной среде ВД в чашках Петри в парах м- и п-ксилола.

Антагонистическую активность нефтеокисляющих микроорганизмов определяли методом перпендикулярных штрихов [31].

Углеводородокисляющую способность созданных консорциумов микроорганизмов изучали в жидкой минеральной среде ВД. Суспензию клеток готовили смешиванием культуральной жидкости отдельных штаммов в равных количествах. Готовый посевной материал вносили во флаконы со 100 мл среды в количестве 5 мл. В качестве источника углерода и энергии добавляли по 300 мкл смеси о-, м- и п-ксилола (1:1:1). После внесения посевного материала все флаконы со смесью ксилолов плотно закрывали, чтобы предотвратить улетучивание субстрата. Инкубировали в условиях аэрации на шейкере ISF1-X модель SMX1501 при 180 об/мин в течение 2 суток. Контролем служила минеральная среда без бактерий с добавлением соответствующих субстратов.

Об активности созданных консорциумов судили по приросту биомассы, которую определяли по изменению оптической плотности, а также по степени деструкции изучаемых углеводородов.

Содержание изомеров ксилола определяли методом парофазного анализа в сочетании с газовой хроматографией на газовом хроматографе Agilent 7890 (США) с помощью плазменно-ионизационного детектора. Пробу помещали в стеклянный флакон емкостью 20 мл, закрывали пробкой из эластичной резины и нагревали при температуре 80 °С в водяном термостате для того, чтобы перевести летучие соединения в газовую фазу. По истечении 20 минут шприцем отбирали 1 мл паровой фазы, вводили ее в испаритель газового хроматографа и анализировали с использованием универсального детектора (ПВД). Параметры хроматографирования: колонка – DB-35MS (30 м × 0,25 мм × 0,25 мм), температура термостата печи – 150 °С, температура ввода пробы – 200 °С, время анализа – 5 мин. Условия детектирования: температура детектора – 300 °С, скорость подачи водорода – 50 мл/мин, скорость подачи воздуха – 300 мл/мин.

### Результаты исследований и обсуждение

В последние годы биodeградация органических соединений (таких как БТЭК) до CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O и биомассы специализированными бактериями

привлекает большое внимание. Так, сообщается о выделенных аэробных и анаэробных штаммах бактерий – деструкторов изомеров ксилола, относящихся к видам *Pandoraea sp.*, *Cladophialopharo sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Pseudomonas putida* и др. [32, 33, 34, 35]. Однако, хотя эти микроорганизмы могут разрушать ксилол, их низкие скорости роста и биодegradации в естественных условиях ограничивают их использование в биоремедиации. Для улучшения процессов биодegradации исследователями были предприняты ряд мер, таких как оптимизация условий роста, поиск ко-метаболических соединений, обнаружение ключевых метаболитов [36, 37, 38].

Было проведено повышение окислительного потенциала ранее отобранных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов, растущих на этом субстрате [39, 40], методом полунепрерывного культивирования. Этот метод основан на отъемно-доливочном культивировании, когда часть содержимого культуральной жидкости периодически изымается и добавляется равное количество свежей питательной среды. Такой прием обеспечивает регулярное обновление исследуемой культуры и задерживает ее переход в фазу отмирания.

Проведено полунепрерывное культивирование 9 культур (1/1 ан, 1/6 ан-2, 1/8 ан, 2/4 фл, 2/5 фл, 2/6 фл, 2/2 кс, П1-фл1-4, П1-фл1-5). В результате было отобрано по 5 вариантов для каждой культуры. Была проверена их активность в жидкой минеральной среде с о-ксилолом, который вносили в количестве 5 мл/л. Об активности полученных вариантов судили по приросту биомассы, которую определяли по оптической плотности.

Известно, что биодegradация усиливается, когда количество бактерий увеличивается, и чем больше биоразложение, тем больше биомасса. Уменьшение концентрации субстрата сначала становится заметным, когда присутствует достаточное количество микробов, и процесс останавливается, когда весь субстрат израсходован [41]. Результаты исследования показали, что у исходных штаммов 1/6ан-2, П1-фл1-4, 1/8ан наибольший прирост биомассы наблюдался через 24 ч, у остальных культур – через 48 ч. При этом биомасса увеличивалась в 1,8-3,8 раза. После полунепрерывного культивирования были получены варианты с более высокой углеводородокисляющей активностью. Улучшенные варианты вар1-1/6ан-2 и вар1-П1-фл1-4 показали увеличение биомассы в 2 раза по сравнению с исходными штаммами 1/6ан-2 и П1-фл1-4. Наи-

больший прирост биомассы показали варианты 3 и 4 штамма 1/8 ан-2 (рисунок 1). При их культивировании биомасса увеличилась в 4,8 и 5,3 раза, что в 2,6 и 2,9 раза выше, чем у исходного штамма. У остальных культур после полунепрерывного культивирования у полученных вариантов прирост биомассы был в 1,5 раза больше, чем у исходных штаммов.

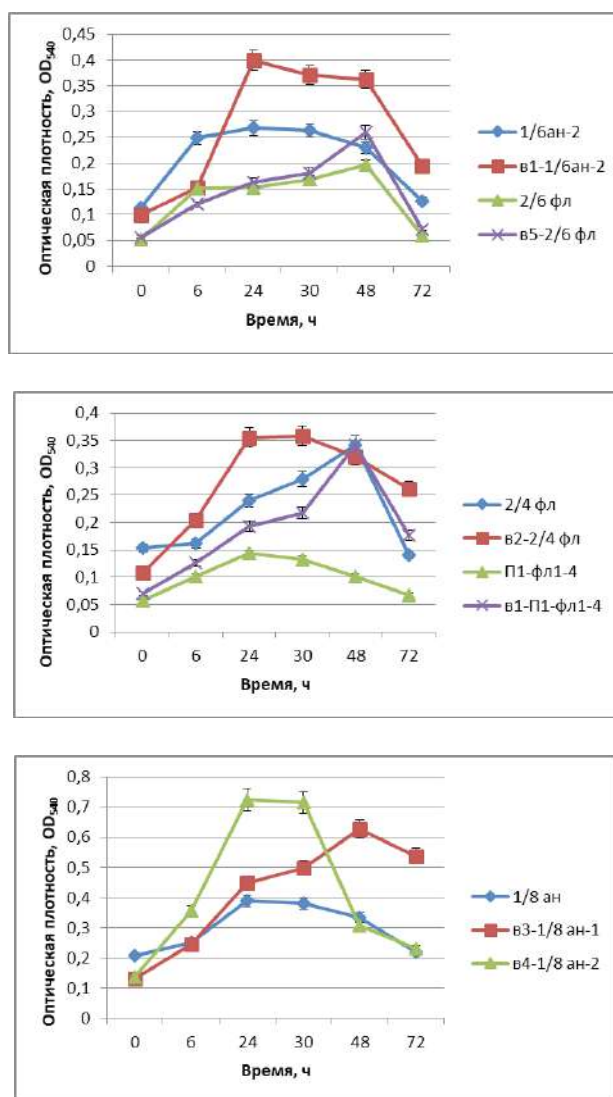


Рисунок 1 – Рост исходных культур и их вариантов после полунепрерывного культивирования на о-ксилоле

На следующем этапе была проверена способность исследуемых штаммов расти на п- и м-ксилоле. Установлено, что штаммы 17WDT и 1/8 ан хорошо росли на п-ксилоле, 28K и 2/5 фл – на м-ксилоле, 21WDT, П1-фл1-4 и П1-фл1-5 – на обоих изомерах.



Известно, что для повышения эффективности биодеградации углеводородов нефти целесообразно использовать смешанные культуры, состоящие из двух и более микроорганизмов. Следует отметить, что четких критериев составления консорциумов микроорганизмов до настоящего времени не предложено и в состав биопрепаратов включают штаммы по принципу их совместимости и высокой углеводородокисляющей активности [42].

Для создания высокоактивных искусственных ассоциаций культур бактерий необходимо учитывать взаимоотношения между микроорганизмами. С этой целью исследовали наличие или отсутствие антагонизма между отобранными культурами, характеризующимися повышенной активностью. Результаты исследования показали, что все активные штаммы углеводородокисляющих микроорганизмов были взаимно толерантны друг к другу.

После определения антагонистической активности, на основе углеводородокисляющих микроорганизмов, растущих на ксилоле, было составлено 10 консорциумов. Проведен первичный скрининг на способность расти в жидкой минеральной среде со смесью изомеров ксилола (о-, м- и п-кислол). Об активности созданных консорциумов судили по приросту биомассы.

Результаты исследования показали, что на смеси о-, м- и п-кисолов росли четыре консорциума из десяти изучаемых, в состав которых входили следующие штаммы:

консорциум 2 – *B. licheniformis* 17WDT, *Ps. aeruginosa* 2/2 кс, *Rh. erythropolis* 2/5 фл, *Rh. erythropolis* 2/4 фл;

консорциум 5 – *Rh. erythropolis* 28K, *Pusillimonas sp.* 1/8 ан, *B. tropicus* 2/6 фл;

консорциум 7 – *B. haynesii* 21WDT, *B. megaterium* 1/6 ан-2, *Rh. erythropolis* 2/5 фл, *B. megaterium* П1-фл1-4;

консорциум 8 – *B. megaterium* 1/1 ан, *B. thuringiensis* 2/4 фл, *B. tropicus* 2/6 фл, *B. megaterium* П1-фл1-5.

Установлено, что у консорциумов 2, 5 и 7 стационарная фаза роста наступала через 12 ч культивирования, а у консорциума 8 – через 18 ч (рисунок 2). Наибольший рост наблюдался у консорциума 8, биомасса которого возрастала в 4,8 раза. У консорциумов 5 и 7 оптическая плотность культуральной жидкости увеличивалась в 3,2 и 3,7 раза соответственно. Менее активным был консорциум 2.

Изучена деструкция смеси изомеров ксилолов под воздействием отобранных ассоциаций 5, 7 и 8 (рисунок 3).

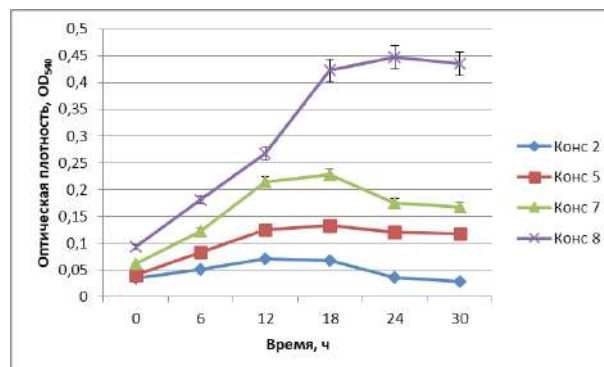


Рисунок 2 – Рост консорциумов на смеси изомеров ксилола

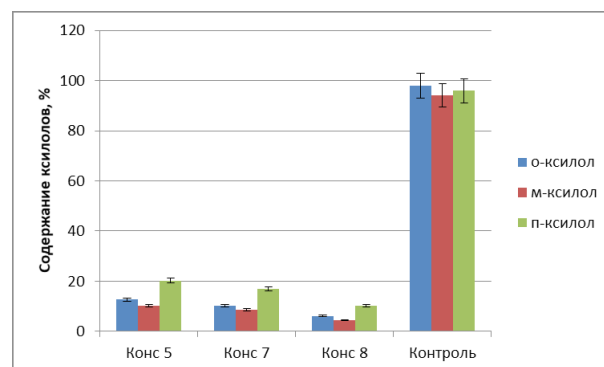


Рисунок 3 – Деструкция смеси изомеров ксилола активными консорциумами

Результаты исследования показали высокую активность отобранных консорциумов. Через 24 ч культивирования остаточное содержание о-кислола в среде составило 6,1-12,7%, м-кислола – 4,5-10,2%, п-кислола – 10,2-20,2%. Естественная убыль субстратов составила 2-6%. Известно, что о-кислол, один из трех изомеров ксилола, обладает самой низкой способностью к биологическому разложению [43]. Так, в работе Jiang В. с соавт. показано, что суспензия клеток *Comamonas sp.* JВ разлагала в первую очередь п-кислол, затем м-кислол и в последнюю очередь о-кислол. При этом, м- и п-кислолы (50 мг/л) полностью разлагались в течение 3 дней, а о-кислол (50 мг/л) – в течение 8 дней [44].

В нашем случае под воздействием консорциумов в первую очередь подвергался деструкции о-кислол, а п-кислол был более устойчивым к воздействию клеток. Это связано с тем, что исследуемые штаммы углеводородокисляющих бакте-

рий были выделены из накопительных культур с о-ксилолом и повышение их активности проводилось на этом изомере. Кроме того, использование консорциумов способствовало увеличению скорости деструкции изомеров ксилола при их большей концентрации в среде. При концентрации 100 мг/л каждого изомера они практически полностью разлагались за двое суток.

Наибольшую активность показал консорциум 8, который утилизировал 89,8-95,5% изомеров ксилола. Следует отметить, что в составе консорциумов 7 и 8 преобладали бактерии рода *Bacillus*. Поскольку из нефтезагрязненных почв в основном были выделены бациллярные формы, возможно, они обладали большей устойчивостью и активностью по отношению к исследуемым субстратам. Вероятно, с этим связана наибольшая деструкционная способность этих консорциумов.

### Заключение и выводы

Бензол, толуол, о-, м- и п-ксилолы (ВТХ) – это часть водорастворимых нефтяных углеводородов, которые могут легко распространяться в почвах и грунтовых водах в результате процесса добычи нефти, протекания резервуаров и проблем, возникающих при транспортировке на большие расстояния. Поэтому их удаление является одной из наиболее важных экологических проблем.

В последние десятилетия разрабатываются биологические методы, в частности микробная биодegradация, как наиболее эффективные, недорогие и экологичные в очистке загрязненных участков от нефтяных углеводородов. В настоя-

щее время большинство усилий направлено на поиск бактериальных сообществ, способных минерализовать загрязнители в менее вредные, непостоянные соединения [45]. При этом, применение смешанных бактерий может еще больше повысить эффективность разложения, поскольку они обладают множественными метаболическими возможностями.

На основе штаммов углеводородокисляющих бактерий с повышенной активностью были созданы консорциумы, эффективно деградирующие смесь изомеров ксилола. Через 2 суток культивирования их деструкция составила 79,8-95,5%. Таким образом, полученные результаты показывают, что эффективная биоремедиация различных сред, загрязненных смешанными органическими соединениями, может быть достигнута с помощью использования микробных консорциумов.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Национальной программы грантов Казахстана на 2018-2020 годы. Финансирование предоставлено Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках бюджетной программы 217 «Развитие науки» и подпрограммы 102 «Грантовое финансирование научных исследований», договор № 102 от 05 марта 2018 года, проект № AP05132069.

### Литература

- 1 Chakraborty R. and Coates J. Anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons // *Appl. Microbiology and Biotechnol.* – 2004. – Vol. 64(4). – P. 437-446.
- 2 de Nardi I., Ribeiro R., Zaiat M. and Foresti E. Anaerobic packed-bed reactor for bioremediation of gasoline-contaminated aquifers // *Process Biochemistry.* – 2005. – Vol. 40(2). – P. 587-592.
- 3 Farhadian M., Duchez D., Vachelard C. and Larroche C. Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors // *A review. Water research.* – 2008. – Vol. 42(6-7). – P. 1325-1341.
- 4 Garoma T., Gurol M., Osibodu O. and Thotakura L. Treatment of groundwater contaminated with gasoline components by an ozone/UV process // *Chemosphere.* – 2008. – Vol. 73(5). – P. 825-831.
- 5 Галиулин Р.В., Галиулина Р.А., Башкин В.Н. Очистка почвы от нефти как способ защиты грунтовых вод от загрязнения // *Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение.* – 2015. – Т. 95, № 11. – С. 22-25.
- 6 Дьяченко В.В., Матасова И.Ю. Загрязнение и динамика микроэлементов в почвах юга России // *Геоэкология, инженерная геология, гидрогеология, геокриология.* – 2015. – № 4. – С. 324-332.
- 7 Liao D.Q., Li J.J., Sun D.F., Xu M.Y., An T.C., Sun G.P. Treatment of volatile organic compounds from a typical waste printed circuit board dismantling workshop by a pilot-scale biotrickling filter // *Biotechnol Bioproc Eng.* – 2015. – Vol. 20(4). – P. 766±74.

- 8 Morlett-Chávez J.A., Ascacio-Martínez J.Á., Rivas-Estilla A.M., Velázquez-Vadillo J.F., Haskins W.E., Barrera-Saldaña H.A. and Acuña-Askar K. Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2010. – Vol. 64(7). – P. 581-587.
- 9 Okere K.T. Simple Biodegradation of PAHs in 'Pristine' soils from different climatic regions // *J. Bioremed. Biodegr.* – 2011. – Vol. 27. – P. 1-11.
- 10 Duan L., Naidu R., Thavamani P., Meaklim J., Megharaj M. Managing long-term polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soils: a risk-based approach // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2015. – Vol. 22, № 12. – P. 8927-9841.
- 11 Haritash A. K., Kaushik C. P. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review // *Journal of Hazardous Materials*. – 2009. – Vol. 169, № 1-3. – P.1-15.
- 12 US, EPA Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air- Second Edition, United States Environmental Protection Agency, Report EPA/625/R-96/010b. 1999.
- 13 Alberici R.M., Jardim W.E. Photocatalytic destruction of VOCs in the gas-phase using titanium dioxide // *Appl Catal B-Environ.* – 1997. – Vol. 14(1±2). – P.55±68.
- 14 Chang C.T., Chen B.Y. Toxicity assessment of volatile organic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in motorcycle exhaust // *J Hazard Mater.* – 2008. – Vol. 153(3). – P. 1262±9.
- 15 Mazzeo D.E.C. and Marin-Morales M.A. Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 85(1). – P. 13-18.
- 16 FinlaysonPitts B.J., Pitts J.N. Tropospheric air pollution: Ozone, airborne toxics, polycyclic aromatic hydrocarbons, and particles // *Science*. – 1997. – Vol. 276(5315). – P. 1045±52.
- 17 Martino C.D., López N.I. and Lustman L.J.R. Isolation and characterization of benzene, toluene and xylene degrading *Pseudomonas* sp. selected as candidates for bioremediation // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2012. – Vol. 67(2). – P.15-20.
- 18 Sun W., Xie S., Luo C. and Cupples A.M. Direct link between toluene degradation in contaminated-site microcosms and a *Pseudomonas* strain. // *Applied & Environmental Microbiology*. – 2009. – Vol. 76(3). – P. 956-959.
- 19 Zhang L., Zhang C., Cheng Z., Yao Y. and Chen J. Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by the bacterium *Mycobacterium cosmeticum* byf-4 // *Chemosphere*. – 2012. – Vol. 90(4). – P. 1340-1347.
- 20 Khelifi E., Bouallagui H., Fardeau M., Touhami Y., Godon J., Cayol J., Ollivier B. and Hamdi M. Fermentative and sulphate-reducing bacteria associated with treatment of an industrial dye effluent in an up-flow anaerobic fixed bed bioreactor // *Biochemical Engineering J.* – 2009. – Vol. 45(2). – P. 136-144.
- 21 Ayati B. and Ganjidoust H. Comparing the efficiency of UAFF and UASB with hybrid reactor in treating Wood Fiber Wastewater // *Iranian J. Environmental Health Sci. and Eng.* – 2006. – Vol. 3(1). – P. 39-44.
- 22 Chakraborty R., O'Connor S., Chan E. and Coates J. Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB // *Applied and Environmental Microbiol.* – 2005. – Vol. 71(12). – P. 8649.
- 23 Jahn M., Haderlein S. and Meckenstock R. Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene in sediment-free iron-reducing enrichment cultures // *Applied and Environ. Microbiol.* – 2005. – Vol. 71(6). – P 3355.
- 24 Saghafi S., Najafpour G., Bakhshi Z., Karimineza E. and Rayatdoust N. Biodegradation of Toluene and Xylene in a batch culture of *Pseudomonas putida* // *American-Eurasian J. Agricultural and Environ. Sci.* – 2010. – Vol. 7(1). – P. 01-06.
- 25 Baptista I.I.R., Zhou, N.Y.†, Emanuelsson E.A.C., Peeva, L. G., Leak D. J., Mantalaris A. and Livingston A. G. Evidence of species succession during chlorobenzene biodegradation // *Biotechnology & Bioengineering*. – 2008. – Vol. 99(1). – P. 68-74.
- 26 Emanuelsson E.A.C., Baptista I.I.R., Mantalaris A. and Livingston A.G. Strain stability in biological systems treating recalcitrant organic compounds // *Biotechnology & Bioengineering*. – 2005. – Vol. 92(7). – P. 843-849.
- 27 Feisther V.A., Souza A.A.U.D., Trigueros D.E.G., Mello J.M.M.D. and Oliveira D.D. Biodegradation kinetics of benzene, toluene and xylene compounds: microbial growth and evaluation of models // *Bioprocess & Biosystems Engineering*. – 2015. – Vol. 38(7). – P. 1233-1241.
- 28 Yu J., Liu Q., Hu J. and Feng Z. Degradation of o-xylene by a novel strain, *Zoogloearesiniphila* HJ1: Identification, kinetics and metabolic pathway // *Global NEST Journal*. – 2017. – Vol. 19(2). – P. 241-250.
- 29 Varjani S.J., Rana D.P., Bateja S., Upasani V.N. Isolation and screening for hydrocarbon utilizing bacteria (HUB) from petroleum samples // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* – 2013. – Vol. 2, Issue4. – P. 48-60.
- 30 Batista S.B., Mounteer A.H., Amorim F.R., Totola M.R. Isolation and characterization of biosurfactant/bioemulsifier-producing bacteria from petroleum contaminated sites // *Bioresour. Technol.* – 2006. – Vol. 97. – P.868-875.
- 31 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках – М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.
- 32 Kim D., Chae J.C., Zylstra G.J., Kim Y.S., Kim S.K., Nam M.H. and Kim E. Identification of a novel dioxygenase involved in metabolism of o-xylene, toluene, and ethylbenzene by *Rhodococcus* sp. strain DK17 // *Applied & Environmental Microbiology*. – 2004. – Vol. 70(12). – P. 7086-7092.
- 33 Kim D., Lee C.H., Choi J.N., Choi K.Y., Zylstra G.J. and Kim E. Aromatic Hydroxylation of Indan by o-Xylene-Degrading *Rhodococcus* sp. Strain DK17 // *Applied & Environmental Microbiology*. – 2010. – Vol. 76(1). – P. 375-377.
- 34 Wang X., Wang Q., Li S. and Wei L. Degradation pathway and kinetic analysis for p-xylene removal by a novel *Pandoraea* sp. strain WL1 and its application in a biotrickling filter // *Journal of Hazardous Materials*. – 2015. – Vol. 288. – P. 17-24.
- 35 Das K. and Mukherjee A. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India // *Bioresour. Technol.* – 2007. – Vol. 98(7). – P. 1339-1345.
- 36 Shadi A.M., Yaghmaei S., Vafaei F., Khataee A.R. and Hejazi M.S. Degradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) from aqueous solution by isolated bacteria from contaminated sites // *Research on Chemical Intermediates*. – 2013. – Vol. 41(1). – P. 265-275.

- 37 Yang Q., Shang H.T., Hui-Di L.I., Hong-Bo X.I. and Wang J.L. Biodegradation of Tetrachloroethylene Using Methanol as Co-metabolic Substrate 1 // *Biomedical and Environmental Sciences*. – 2008. – Vol. 21(2). – P. 98-102.
- 38 Yao Y., Lv Z., Min H., Lv Z. and Jiao H. Isolation, identification and characterization of a novel *Rhodococcus* sp. strain in biodegradation of tetrahydrofuran and its medium optimization using sequential statistics-based experimental designs // *Bioresource Technology*. – 2009. – Vol. 100(100). – P. 2762-2769.
- 39 Файзулина Э.Р., Айткельдиева С.А., Татаркина Л.Г., Ауэзова О.Н., Спанкулова Г.А. Отбор и изучение коллекционных микроорганизмов – деструкторов ароматических углеводородов // *Микробиология және вирусология*. – 2018. – №3. – С. 29-40.
- 40 Файзулина Э.Р., Айткельдиева С.А., Татаркина Л.Г., Ауэзова О.Н. Выделение и изучение микроорганизмов-деструкторов о-ксилола // *Материалы XI международной научной конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты», 3–6 июня 2019, Минск*. – С. 272-273.
- 41 Aerobic biodegradation of xylene with biomass increase <https://www.hydrochemistry.eu/exmpls/xylene.html>
- 42 Ветрова А.А. Биодegradация углеводородов нефти плазмидосодержащими микроорганизмами-деструкторами: дис. ...к.б.н.: 03.01.06. – Москва, 2010. – 169 с.
- 43 Taki H., Syutsubo K., Mattison R.G., Harayama S. Identification and characterization of o-xylene-degrading *Rhodococcus* spp. which were dominant species in the remediation of o-xylene-contaminated soils // *Biodegradation*. – 2007. – Vol. 18(1). – P. 17-26.
- 44 Jiang B., Zhou Z., Dong Y., Tao W., Wang B., Jiang J., Guan X. Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and o-, m-, and p-Xylenes by the Newly Isolated Bacterium *Comamonas* sp. JB // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2015. – Vol. 176. – P. 1700–1708.
- 45 Mesgari Shadi A., Yaghmaei S., Vafaei F., Khataee A. R., Hejazi M. S. Degradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) from aqueous solution by isolated bacteria from contaminated sites // *Res. Chem. Intermed.* – 2015. – Vol. 41. – P. 265–275.

## References

- 1 Chakraborty, R. and Coates, J. “Anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons.” *Appl. Microbiology and Biotechnol.* 64, 4 (2004): 437-446.
- 2 de Nardi, I., Ribeiro, R., Zaiat, M. and Foresti, E. “Anaerobic packed-bed reactor for bioremediation of gasoline-contaminated aquifers.” *Process Biochemistry* 40, 2 (2005): 587-592.
- 3 Farhadian, M., Duchez, D., Vachelard, C. and Larroche, C. “Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors--A review.” *Water research* 42, 6-7 (2008): 1325-1341.
- 4 Garoma, T., Gurol, M., Osibodu, O. and Thotakura, L. “Treatment of groundwater contaminated with gasoline components by an ozone/UV process.” *Chemosphere* 73, 5 (2008): 825-831.
- 5 Galiulin, R.V., Galiulina, R.A., Bashkin, V.N. “Ochistka pochvy ot nefti kak sposob zashchity gruntovykh vod ot zagryazneniya [Purification of soil from oil as a way to protect groundwater from pollution].” *Water Treatment. Water treatment. Water supply* 95, 11 (2015): 22-25.
- 6 Dyachenko, V.V., Matasova, I.Yu. “Zagryazneniye i dinamika mikroelementov v pochvakh yuga Rossii [Microelement pollution and dynamics in soils of the south of Russia].” *Geoecology, engineering geology, hydrogeology, geocryology* 4 (2015): 324-332.
- 7 Liao, D.Q., Li, J.J., Sun, D.F., Xu, M.Y., An, T.C., Sun, G.P. “Treatment of volatile organic compounds from a typical waste printed circuit board dismantling workshop by a pilot-scale biotrickling filter.” *Biotechnol Bioproc Eng.* 20, 4 (2015):766±74.
- 8 Morlett-Chávez, J.A., Ascacio-Martínez, J.Á., Rivas-Estilla, A.M., Velázquez-Vadillo, J.F., Haskins, W.E., Barrera-Saldaña, H.A. and Acuña-Askar, K. “Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it.” *International Biodeterioration & Biodegradation* 64, 7 (2010): 581-587.
- 9 Okere, K.T. “Simple Biodegradation of PAHs in ‘Pristine’ soils from different climatic regions.” *J. Bioremed. Biodegr.* 27 (2011): 1-11.
- 10 Duan, L., Naidu, R., Thavamani, P., Meaklim, J., Megharaj, M. “Managing long-term polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soils: a risk-based approach.” *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 12 (2015): 8927-9841.
- 11 Haritash, A. K., Kaushik, C. P. “Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review.” *Journal of Hazardous Materials* 169, 1-3 (2009):1-15.
- 12 US, EPA Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air- Second Edition, United States Environmental Protection Agency, Report EPA/625/R-96/010b. 1999
- 13 Alberici, R.M., Jardim, W.E. “Photocatalytic destruction of VOCs in the gas-phase using titanium dioxide.” *Appl Catal B-Environ.* 14, 1±2 (1997):55±68.
- 14 Chang, C.T., Chen, B.Y. “Toxicity assessment of volatile organic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in motorcycle exhaust.” *J Hazard Mater.* 153, 3 (2008):1262±9.
- 15 Mazzeo, D.E.C. and Marin-Morales, M.A. “Cellular damages in the *Allium cepa* test system, caused by BTEX mixture prior and after biodegradation process.” *Chemosphere* 85, 1 (2011):13-18.
- 16 FinlaysonPitts, B.J., Pitts, J.N. “Tropospheric air pollution: Ozone, airborne toxics, polycyclic aromatic hydrocarbons, and particles.” *Science* 276, 5315 (1997):1045±52.
- 17 Martino, C.D., López, N.I. and Lustman, L.J.R. “Isolation and characterization of benzene, toluene and xylene degrading *Pseudomonas* sp. selected as candidates for bioremediation.” *International Biodeterioration & Biodegradation* 67, 2 (2012):15-20.
- 18 Sun, W., Xie, S., Luo, C. and Cupples, A.M. “Direct link between toluene degradation in contaminated-site microcosms and a *Polaromonas* strain.” *Applied & Environmental Microbiology* 76, 3 (2009):956-959.

- 19 Zhang, L., Zhang, C., Cheng, Z., Yao, Y. and Chen, J. "Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by the bacterium *Mycobacterium cosmeticum* byf-4." *Chemosphere* 90, 4 (2012):1340-1347.
- 20 Khelifi, E., Bouallagui, H., Fardeau, M., Touhami, Y., Godon, J., Cayol, J., Ollivier, B. and Hamdi, M. "Fermentative and sulphate-reducing bacteria associated with treatment of an industrial dye effluent in an up-flow anaerobic fixed bed bioreactor." *Biochemical Engineering J.* 45, 2 (2009): 136-144.
- 21 Ayati, B. and Ganjidoust, H. "Comparing the efficiency of UAFF and UASB with hybrid reactor in treating Wood Fiber Wastewater." *Iranian J. Environmental Health Sci. and Eng.* 3, 1 (2006): 39-44.
- 22 Chakraborty, R., O'Connor, S., Chan, E. and Coates, J. "Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB." *Applied and Environmental Microbiol.* 71, 12 (2005): 8649.
- 23 Jahn, M., Haderlein, S. and Meckenstock, R. "Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene in sediment-free iron-reducing enrichment cultures." *Applied and Environ. Microbiol.* 71, 6 (2005): 3355.
- 24 Saghafi, S., Najafpour, G., Bakhshi, Z., Kariminezh, E. and Rayatdoust, N. "Biodegradation of Toluene and Xylene in a batch culture of *Pseudomonas putida*." *American-Eurasian J. Agricultural and Environ. Sci.* 7, 1 (2010): 01-06.
- 25 Baptista, I.I.R., Zhou, N.Y., Emanuelsson, E.A.C., Peeva, L. G., Leak, D. J., Mantalaris, A. and Livingston, A. G. "Evidence of species succession during chlorobenzene biodegradation." *Biotechnology & Bioengineering* 99, 1 (2008): 68-74.
- 26 Emanuelsson, E.A.C., Baptista, I.I.R., Mantalaris, A. and Livingston, A.G. "Strain stability in biological systems treating recalcitrant organic compounds." *Biotechnology & Bioengineering* 92, 7 (2005): 843-849.
- 27 Feisther, V.A., Souza, A.A.U.D., Trigueros, D.E.G., Mello, J.M.M.D. and Oliveira, D.D. "Biodegradation kinetics of benzene, toluene and xylene compounds: microbial growth and evaluation of models." *Bioprocess & Biosystems Engineering* 38, 7 (2015): 1233-1241.
- 28 Yu, J., Liu, Q., Hu, J. and Feng, Z. "Degradation of o-xylene by a novel strain, *Zoogloearesiniphila* HJ1: Identification, kinetics and metabolic pathway." *Global NEST Journal* 19, 2 (2017): 241-250.
- 29 Varjani, S.J., Rana, D.P., Bateja, S., Upasani, V.N. "Isolation and screening for hydrocarbon utilizing bacteria (HUB) from petroleum samples." *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2, 4 (2013): 48-60.
- 30 Batista, S.B., Munteer, A.H., Amorim, F.R., Totola, M.R. "Isolation and characterization of biosurfactant/bioemulsifier-producing bacteria from petroleum contaminated sites." *Bioresour. Technol.* 97 (2006): 868-875.
- 31 Egorov, N.S. *Osnovy ucheniya ob antibiotikakh* [Fundamentals of the doctrine of antibiotics]. Moscow: Publishing house of Moscow State University; The science, 2004.
- 32 Kim, D., Chae, J.C., Zylstra, G.J., Kim, Y.S., Kim, S.K., Nam, M.H. and Kim, E. "Identification of a novel dioxygenase involved in metabolism of o-xylene, toluene, and ethylbenzene by *Rhodococcus* sp. strain DK17." *Applied & Environmental Microbiology* 70, 12 (2004): 7086-7092.
- 33 Kim, D., Lee, C.H., Choi, J.N., Choi, K.Y., Zylstra, G.J. and Kim, E. "Aromatic Hydroxylation of Indan by o-Xylene-Degrading *Rhodococcus* sp. Strain DK17." *Applied & Environmental Microbiology* 76, 1 (2010): 375-377.
- 34 Wang, X., Wang, Q., Li, S. and Wei, L. "Degradation pathway and kinetic analysis for p-xylene removal by a novel *Pandora* sp. strain WL1 and its application in a biotrickling filter." *Journal of Hazardous Materials* 288 (2015):17-24.
- 35 Das, K. and Mukherjee, A. "Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India." *Bioresour. Technol.* 98, 7 (2007): 1339-1345.
- 36 Shadi, A.M., Yaghmaei, S., Vafaei, F., Khataee, A.R. and Hejazi, M.S. "Degradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) from aqueous solution by isolated bacteria from contaminated sites." *Research on Chemical Intermediates* 41, 1 (2013): 265-275.
- 37 Yang, Q., Shang, H.T., Hui-Di, L.I., Hong-Bo, X.I. and Wang, J.L. "Biodegradation of Tetrachloroethylene Using Methanol as Co-metabolic Substrate 1" *Biomedical and Environmental Sciences* 21, 2 (2008): 98-102.
- 38 Yao, Y., Lv, Z., Min, H., Lv, Z. and Jiao, H. "Isolation, identification and characterization of a novel *Rhodococcus* sp. strain in biodegradation of tetrahydrofuran and its medium optimization using sequential statistics-based experimental designs." *Bioresource Technology* 100, 100 (2009): 2762-2769.
- 39 Fayzulina, E.R., Aitkeldieva, S.A., Tatarkina, L.G., Auezova, O.N., Spankulova, G.A. "Otbor i izucheniye kolleksiionnykh mikroorganizmov – destruktorov aromatischeskikh uglevodorodov [Selection and study of collection microorganisms – aromatic hydrocarbon destructors]." *Microbiology and Virology* 3 (2018): 29-40.
- 40 Fayzulina, E.R., Aitkeldieva, S.A., Tatarkina, L.G., Auezova, O.N. "Vydeleniye i izucheniye mikroorganizmov-destruktorov o-kisilola [Isolation and study of microorganisms- destructors of o-xylene]." XI International Scientific Conference "Microbial Biotechnologies: Fundamental and Applied Aspects": Abstracts Minsk (2019): 272-273.
- 41 Aerobic biodegradation of xylene with biomass increase <https://www.hydrochemistry.eu/exmpls/xylene.html>
- 42 Vetrova, A.A. *Biogradatsiya uglevodorodov nefi plazmidosoderzhashchimi mikroorganizmami-destruktorami* [Biodegradation of oil hydrocarbons by plasmid-containing microorganisms-destructors]: dis. ... Ph.D.: 01/03/06. Moscow (2010): 169 p.
- 43 Taki, H., Syutsubo, K., Mattison, R.G., Harayama, S. "Identification and characterization of o-xylene-degrading *Rhodococcus* spp. which were dominant species in the remediation of o-xylene-contaminated soils." *Biodegradation.* 18, 1 (2007): 17-26.
- 44 Jiang, B., Zhou, Z., Dong, Y., Tao, W., Wang, B., Jiang, J., Guan, X. "Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and o-, m-, and p-Xylenes by the Newly Isolated Bacterium *Comamonas* sp. JB." *Appl. Biochem. Biotechnol.* 176 (2015): 1700–1708.
- 45 Mesgari Shadi, A., Yaghmaei, S., Vafaei, F., Khataee, A. R., Hejazi, M. S. "Degradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) from aqueous solution by isolated bacteria from contaminated sites." *Res. Chem. Intermed.* 41 (2015): 265–275.

2-бөлім  
**ҚОРШАҒАН ОРТА ЛАСТАУШЫЛАРЫНЫҢ  
БИОТАҒА ЖӘНЕ ТҰРҒЫНДАР  
ДЕНСАУЛЫҒЫНА ӘСЕРІН БАҒАЛАУ**

---

Section 2  
**ASSESSMENT OF ENVIRONMENTAL  
POLLUTION ON BIOTA AND HEALTH**

---

Раздел 2  
**ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ  
ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ  
НА БИОТУ И ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ**

**S.S. Kenzhebayeva<sup>1\*</sup>** , **A.A. Alnurova<sup>1</sup>**, **Zh.Ch. Tlendieva<sup>1</sup>**,  
**A. Abekova<sup>2</sup>**, **K. Miatzhanova<sup>1</sup>**, **S.D. Atabayeva<sup>1</sup>** , **S.Sh. Asrandina<sup>1</sup>** 

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

<sup>2</sup>Kazakh Institute of Agricultural and Breeding, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>Plant Breeding and Genetics Section,

\*e-mail: kenzhebaevas@mail.ru

## DIFFERENCE IN PHYTIC ACID CONTENT AND PHYTASE ACTIVITY BETWEEN SPRING WHEAT VARIETY AND NEW MUTANT LINES

Genetic variability in micronutrient bioavailability, which is dictated by low grain phytic acid (PA) content, is limited in wheat varieties. The PA particularly enhances such a problem as it also related to an attendant loss of indigestible complexed nutrients and charged proteins in the waste and results in reduced their bioavailability in both humans and livestock. The new spring wheat mutant lines ( $M_7$  generation) developed on the genetic background of cv. Eritrospermum-35 through gamma irradiation by 100 and 200 Gy using  $^{60}\text{Co}$ , were used for evaluation of grain PA content, the study of time germination on phytase activity (PhyA) and its organ-specific distribution. Our investigation showed the large genotypic variation in PA content of the Eritrospermum-35 100 Gy- and 200 Gy-dosed mutant lines. The 23 mutant genotypes of which mostly 200 Gy-treated lines had significantly lower grain PA content by 1.2- to 3.5-times than that parent, with its lowest mean of  $0.78 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}$  in 100 Gy-dosed lines. The variation in PhyA of cv. Eritrospermum-35 and mutant lines was dependent on time germination (3 and 6 hours) and doubling the germination time enhanced grain PhyA to 1.47-fold in cv. Eritrospermum-35, and to 1.36-3.53-fold in mutant lines, indicating that the effect of germination on PhyA was strongly time and genotypes related. Organ-specific distribution (grain, roots, and shoots) of PhyA in cv. Eritrospermum-35 and 100 Gy- and 200 Gy-dosed mutant lines different by grain PA content, in 12- and 24-hours seedlings showed a gradual decrease in grains enzyme activity while its level in roots and shoots of both hours' seedlings was the same. A mutant line numbered 35/1, had maximum PhyA in grains, roots, and shoots of 12-hour seedlings, which exceed the PhyA of cv. Eritrospermum-35 by 3.05-, 3.03- and 8.43-fold, respectively, which is valuable in developing spring wheat cultivars with high PhyA.

**Key words:** variability in grain phytic acid content, spring wheat, phytase activity.

S.S. Кенжебаева<sup>1\*</sup>, А.А. Альнурова<sup>1</sup>, Ж.Ч. Тулендиева<sup>1</sup>,  
А. Абекова<sup>2</sup>, К. Миятжанова<sup>1</sup>, С.Д. Атабаева<sup>1</sup>, С.Ш. Асрандина<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты,  
Қазақстан, Алматы обл., Алмалыбақ а.,

\*e-mail: kenzhebaevas@mail.ru, Kenzhebaevas@kaznu.kz

### Бидай сорттағы және жана мутантты линиялардағы фитин қышқылы мен фитазаның белсенділігінің айырмашылықтары

Бидай сұрыптарында дәндердің құрамында фитин қышқылының (ФҚ) жоғары болуына микронутриенттердің биожетімділігінің генетикалық алуантүрлілігі шектеулі. ФҚ бұл мәселені одан ары тереңдетеді, себебі сіңімділігі жоқ микронутриенттер жиынтығымен тікелей байланысты, сондықтан адамдар мен малға сіңімділіктің төмендеуіне әкеліп соғады.  $^{60}\text{Co}$  пайдалану арқылы 100- және 200-гр гамма сәулелендіру жағдайында алынған бидайдың жаңа мутантты линиялары ( $M_7$  ұрпақ) генетикалық жағдайда жасалған Эритроспермум-35 ФҚ өзгергіштігін бағалауға және фитазаға белсенділігін өсіру күшін зерттеу үшін пайдаланылды. 100- және 200-гр гамма сәулелендіру жағдайында алынған Эритроспермум-35 мутантты линияларында ФҚ құрамында маңызды генетикалық өзгергіштік анықталды, олардың ішінен 200-гр гамма сәулелендіру жағдайында алынған линиялар ФҚ дәндерде анағұрлым төмен болды, аталыққа қарағанда 1,2 – 3,5 есе, 100 Гр да оның ең төмен ортақ мәні  $0,78 \pm 0,02 \text{ мг/г}$ . Сорттағы және мутантты линиялардағы түрлендірме белсенділігі уақытпен өнуіне байланысты (3 және 6 сағат) Эритроспермум-35 сортында өнуге 1,47 есе уақыт артты және 1,36-3,53 есе



мутантты линияларда фитазаның белсенділігін арттырды, бұл дегеніміз фитазаның белсенділігі уақытпен өнуіне және генотипке тәуелділігін дәлелдейді. Фитаза белсенділігінің дәні, тамыр және өскіндерде бөлінуін сортта және мутантты линиялардағы 12 және 24 сағаттық өскіндерде ФК құрамының өзгешеленуі біртіндеп дәндегі белсенділіктің төмендеуін көрсетті және бірқалыпты тамыр мен өскіндерде оның деңгейінің өсуі анықталды. Ең жоғары фитазаның белсенділігі 35/1 нөміріндегі мутантты линияда 12 сағаттық дәні, тамыр және өскіндерде болды, 35 сортының 3,05, 3,03 және 8,43 есе артқан, сәйкесінше, белсенділігі жоғары фитаза сорттарын әзірлеуге құнды болып табылады.

**Түйін сөздер:** дәнде фитин қышқылының түрленгіштігі, бидай, фитаза белсенділігі.

С.С. Кенжебаева<sup>1\*</sup>, А.А. Альнурова<sup>1</sup>, Ж.Ч. Тулендиева<sup>1</sup>,  
А. Абекова<sup>2</sup>, К. Миятжанова<sup>1</sup>, С.Д. Атабаева<sup>1</sup>, С.Ш. Асрандина<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Казахский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, Алматинская обл., с. Алмалыбак,

\*e-mail: kenzhebaevas@mail.ru, Kenzhebaevas@kaznu.kz

### **Различия в содержании фитиновой кислоты и активности фитазы в сорте яровой пшеницы и новых мутантных линий**

Генетическая изменчивость биодоступности микронутриентов, обусловленная высоким содержанием фитиновой кислоты (ФА) в зерне, у сортов пшеницы ограничена. ФА особенно углубляет эту проблему, поскольку она связана с сопутствующей потерей не перевариваемых, связанных с ней комплексов микронутриентов и заряженных белков в отходах, и приводит к снижению их биодоступности для людей и домашнего скота. Новые мутантные линии яровой пшеницы (поколение M<sub>2</sub>), созданные на генетическом фоне сорта Эритроспермум-35 посредством гамма-облучения в дозах 100 и 200 Гр с использованием <sup>60</sup>Co, были взяты для оценки содержания ФА в зерне, исследования времени прорастания на активность фитазы и ее органоспецифического распределения. Выявлена существенная генотипическая изменчивость содержания ФА у Эритроспермум-35 100- и 200-Гр генерированных мутантных линий, из которых, в основном, линии, созданные 200 Гр, имели значительно более низкое содержание ФА в зернах, в 1,2–3,5 раза, чем у родителя, с его самым низким средним значением 0,78 ± 0,02 мг/г в 100 Гр линии. Вариации активности зерновой фитазы у сорта и мутантных линий обусловлены временем прорастания (3 и 6 часов); увеличение времени прорастания вдвое повышало активность фитазы в 1,47 раза у сорта Эритроспермум-35 и в 1,36–3,53 раза в мутантных линиях, что свидетельствует о зависимости активности фитазы от времени прорастания и генотипа. Органоспецифическое распределение (зерно, корни и побеги) активности фитазы у сорта и мутантных линий, различающихся по содержанию ФА, 12- и 24-часовых проростках, показало постепенное снижение зерновой активности и одинаковое увеличение ее уровня в корнях и побегах проростков. Мутантная линия под номером 35/1 имела максимум активности фитазы в зернах, корнях и побегах 12-часовых проростков, который превышал таковую сорта 35 в 3,05, 3,03 и 8,43 раза соответственно, что является ценным при разработке сортов с высокой активностью фитазы.

**Ключевые слова:** вариабельность содержания фитиновой кислоты в зерне, яровая пшеница, активность фитазы.

## **Introduction**

Phytases (myo-inositol hexakisphosphate 3-,6- and 5-phosphohydrolase, EC 3.1.3.8, EC 3.1.3.26 and EC 3.1.3.72) belong to phosphatases that can catalyze the stepwise hydrolysis of myoinositol-(1,2,3,4,5,6)-hexakisphosphate, IP6, also known as phytic acid (PA). Monogastric animals poorly digest PA, as they lack the phytase enzyme, which is responsible for the release of phosphate residues [1]. As the result of phytases catalyzed reaction, phosphorus (P), inositol phosphates, and inositol are formed required for a range of cellular activities [2]. In addition, phytases are considered as pro-nutritional enzymes that make chelated

with PA nutrients, such as macro elements and microelements, bioavailable. Moreover, for many years' phytases have practical inquiries, in this aspect researches have been centered on the actual need for improving utilization of PA-phosphorus in humans and single-stomached animal's diets, and reduced the anti-nutritional action of non-digested PA associating micronutrients in their digestive tracts. Therefore, phytases are considered as tools for managing global phosphate resources and for alleviating human nutrients deficiencies mainly in the developing world [3].

In plants, PA is the main storage form of phosphate, typically amounting 2/3 of the total P content in the grain and seed [3]. PA has a strong

chelating ability and stores in the grains and seeds as an insoluble salted complex with cations called phytin [4]. Phytin forms spherical crystalline inclusions called globoids inside protein storage vacuoles [5]. The globoids are the principal site of phosphorous (P), potassium (K) and magnesium (Mg) in the mature cereal grain and they also contain calcium (Ca), iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn), sodium (Na), sulfur (S), and protein [6]. The anti-nutritional action of PA is particularly valid for Fe and Zn, making these two micronutrients are not bioavailable in humans and animal's diets [7, 8]. There many human diseases that are associated with nutritional deficient and two-thirds of all children's deaths are related to nutrients malnutrition. One of the common consequences of Fe deficiency is anemia. Currently, over three billion people have malnutrition of nutrients with the constantly rising numbers [9, 10]. Being essential bulk of nutrients in the human diet, there is a need genetic enhancement of quality grain wheat including a decrease in PA content which is one of the most cost-effective and powerful approaches for preventing global micronutrient malnutrition problem [9, 11]. Therefore, breeding for grain low phytic acid content is an actual goal to overcome all of these issues [12]. The different approaches were used wherein most of considerable efforts have been concentrated on the development of low PA (LPA) genotypes [13]. Transgenic cereals that express and accumulate microbial phytase in seeds have been developed but these materials require laborious processing steps before the product can be fed to animals [14, 15]. Consequently, more economical and sustainable solutions are necessary [15]. One of an important strategy to decrease PA content is mutagenesis [16]. The LPA mutants have been identified in several crop plants including maize (*Zea mays*) [17, 18], barley (*Hordeum vulgare*) [19], soyabean (*Glycine max*) [20], rice (*Oryza sativa*) [21], and wheat (*Triticum aestivum*) [22, 23]. However, the progress in developing LPA wheat is relatively small compared to the achievements made for other cereal crops. Mutagenesis is a powerful tool for crops improvement and is free of the regulatory restrictions, licensing costs, and societal opposition imposed on genetically modified (GM) organisms. The aim of mutation induction is to increase mutation rate in traits or genes in a short duration that then could be readily exploited by plant breeders for developing new plant varieties without any limitations of GM approaches [16].

In our previous research, spring wheat  $M_7$  mutant lines were developed through physical

mutagenesis on background parent cultivar, cv. Zhenis, for searching a mutation resource with low grain phytic acid (PA) content, for correlations between yield, grain size, and quality parameters [24]. The Zhenis developed via 100 Gy and 200 Gy gamma irradiation treatments  $M_7$  mutant lines were diverse in several grain quality traits, and we revealed that some lines had significantly lower by 1.23-1.63 PA content compared to parent, cv. Zhenis.

The objectives of this study were: (1) to evaluate the variability in grain PA content in  $M_7$  spring wheat mutant lines, generated on genetic base of cv. Eritrospermum-35 using treatments of 100 and 200 Gy gamma irradiation, (2) to study the effect of time germination on grain phytase activity in cv. Eritrospermum-35 and identified 100 Gy- and 200 Gy-dosed mutant lines, differing by grain PA content and (3) to investigate on tissue-specific distribution of phytase activity dependent on time germination.

## Materials and methods

### *Plant material and application of induced mutation*

Grains of spring bread wheat variety cv. Eritrospermum-35 (*T. aestivum* L.) were irradiated with 100 and 200 Gy doses from a  $^{60}\text{Co}$  source at the Kazakh Nuclear Centre. Grains were planted after irradiation to raise  $M_1$  plants. The  $M_1$  generation was grown in the experiment afield of the Kazakh Institute of Agricultural and Farming near Almaty (43°15'N, 76°54'E, and elevation 550 m above mean sea level) [12]. Grains of the spring bread wheat cv. Zhenis (*Triticum aestivum* L.) were irradiated with 100 Gy and 200 Gy doses from a  $^{60}\text{Co}$  source at the Kazakh Nuclear Centre, Almaty. After irradiation, seeds were sown to raise  $M_1$  plants [12]. After harvesting the  $M_5$  plants, 15 lines was selected from the original 100 Gy radiation dose. The selection criteria for these lines was grain weight per main spike (GWS) and per plant (GWP) and it was applied in the  $M_3$  and  $M_4$  generations (2011 and 2012) and based on the values for the parent cv. Eritrospermum-35 grown in the same trial conditions. In 2011 the parent line had mean GWS of  $0.79 \pm 0.24$  g and GWP of  $2.02 \pm 0.6$  g yield values. The threshold criteria for selection in the  $M_4$  generation were  $\text{GWS} > 1.1$  g and  $\text{GWP} > 2.2$  g for mutant lines. The initial number of lines in the  $M_1$  generation was 300 each for the 100 Gy and 200 Gy radiation doses. In the  $M_3$  generation, 61 mutant lines (20%) were selected from the 100 Gy radiation dose population and 48 lines (16%) were selected from the 200 Gy dose. The same numbers of lines for each radiation dose were selected for the  $M_4$ - $M_6$

generation. After harvesting the  $M_7$  plants, 14 lines and 24 lines from the original 100 Gy- and 200 Gy-treated germplasm, respectively, were selected. The 100 Gy-dosed mutant lines were numbered as follows: 145/12, 147/25, 148/1, 149/2, 151/2, 153/4, 155/2, 159/2, 161/7, 165/2, 166/10, 167/2, 169/14 and 171/1. The 200 Gy-dosed lines were numbered: 5/43, 6/4, 7/4, 8/26, 11/5, 11/14, 13/3, 14/3, 16/12, 20/4, 22/46, 26/2, 29/15, 30/4, 31/3, 32/3, 33/1, 34/12, 35/1, 36/5, 37/4, 38/1, 41/1 and 172/1. These mutated populations, selected from the two different levels of gamma irradiation, were used for evaluation of variability in grain PA content and study of effect of time germination on tissue-specific distribution of phytase activity in cv. Eritrospermum-35 spring wheat generated mutant lines through 100 Gy- and 200 Gy gamma irradiation

#### *Phytic acid extraction and determination*

The extraction of PA from milled grain samples (0.3 g) was performed as described by [25] and the 2.5 mL of supernatant was treated with 2 mL 0.2%  $FeCl_3$ , and the mixture was boiled for 30 min with further centrifugation after cooling. The residue was washed twice with deionized water. The 1.5 M NaOH was added for the residue precipitation, shaken, and the solution was centrifuged. The 3 mL of 0.5 M HCl was added to precipitate and then was shaken until the precipitation dissolved. The solution was diluted to 25 mL to measure Fe remaining in the solution by atomic absorption spectrophotometer (AAS, Shimadzu AA6300, Japan). PA sodium (Sigma St Louis, Missouri, USA) was used to test the PA recovery rate. The PA test results suggested that the recoveries were between 96 and 100%. The determination of PA was based on precipitation of ferric phytate and measurement of Fe remaining in the supernatant [25]. The grain PA content was calculated by multiplying Fe content by a factor of 4.2.

#### *Phytase extraction and activity assay*

Phytase activity was analyzed according to a method reported previously [26]. Phytic acid

sodium salthdrate (Sigma P0109 from rice) was used as substrate. The phytase activity was expressed as units, which is defined as the amount of inorganic phosphorus released from sodium phytate at a rate of  $1 \mu\text{mol min}^{-1} \text{kg}^{-1}$  at pH 5.5 and  $37^\circ$ .

## Results and discussion

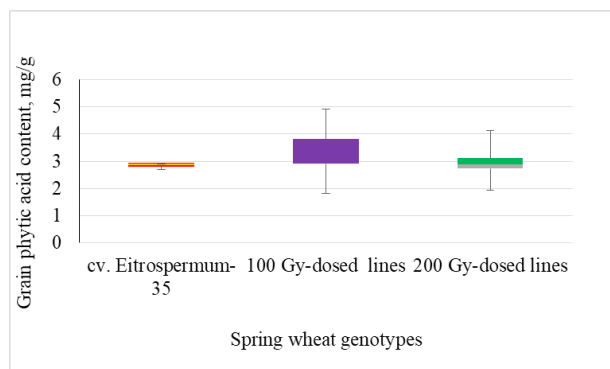
Cereals crops bio fortification by nutrients centered on either increasing the accumulation of these in grains or improving their availabilities to realize both goals. High nutrients bioavailability, is in particular regarded as crucial, can be achieved by the reductions of anti-nutritional agents, particularly grain PA content, considering as the most important causal solution [8, 10, 27]. For the past years, it is being promulgated that Fe and Zn malnutrition well as combat of environmental issues associated with seed PA-P content could be decreased by grain PA content.

Our results revealed that relative to the spring wheat parent, cv. Eritrospermum-35, grain PA content was significantly decreased or increased in mutant lines developed (table 1, figure 1). The ranges in PA content were  $0.75\text{-}3.84 \text{ mg g}^{-1}$  with a mean of  $2.26 \pm 0.68$  and  $2.20 \pm 0.48 \text{ mg g}^{-1}$ , in 100 Gy-dosed and 200 Gy-dosed lines, respectively ( $n=42$  and  $n=72$ ) (figure 1). These ranges of values define the PA genetic variability that exists in the pooled parent and gamma-irradiated lines under one set of environmental conditions. The 23 mutant genotypes (60.5%) of which 17 lines are 200 Gy-treated had significantly lower grain PA content by 1.2- to 3.5-times than that the parent ( $2.74 \pm 0.09 \text{ mg g}^{-1}$ ), with the lowest mean of  $0.78 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}$  in 100 Gy-dosed line (figure 1).

For the past years, it is being promulgated that Fe and Zn malnutrition as well combat of environmental issues associated with seed PA-P could be increased by decreasing PA content.

**Table 1** – Comparison between grain phytic acid content means and ranges for spring wheat cv. Eritrospermum-35 (parent), 100 Gy- and 200 Gy-dosed  $M_7$  mutant lines

Grain quality trait	cv. Eritrospermum-35		100 Gy-dosed lines		200 Gy-dosed lines	
	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
Phy content (mg/g)	2,61	2,74-2,81	2,26	0,75-3,84	2,20	1,15-3,34



**Figure 1** – Boxplot chart demonstrating variation in grain phytic acid content of spring wheat cv. Eritrospermum-35, parent, and irradiated 100 Gy- and 200 Gy-dosed irradiated mutant lines

Studies of natural variation showed the huge difference for grain phytic acid content of wheat germplasm. The reported ranges in PA content in the 93 wheat accessions were from 0.59 to 2.08 % [28], in modern varieties from 1.25 to 3.42 % [29], and the range from 7 to 13 mg g<sup>-1</sup> depending on Zn fertilization [30]. High PA content was found for whole-wheat flour (44.91 mg g<sup>-1</sup>) [31] (Frontela *et al.*, 2011), and Spain grown wheat (24.6-45.4 mg g<sup>-1</sup>) [32]. One of possible explanations for these inconsistent finding could be related to the method used for PA determination. The selection of the most appropriate method for the PA analysis is critical [27].

Considering that phytases are as pro-nutritional enzymes that make chelated with PA nutrients, such as macroelements and microelements, bioavailable [3] and have practical inquiries, our research was therefore carried out for determination of the effect of germination time on phytase activity (PhyA) and investigation of organ-specific distribution of phytase depending on germination time in spring wheat cv. Eritrospermum-35 and mutant lines differing by grain PA content, and to reveal is there a difference between genotypes.

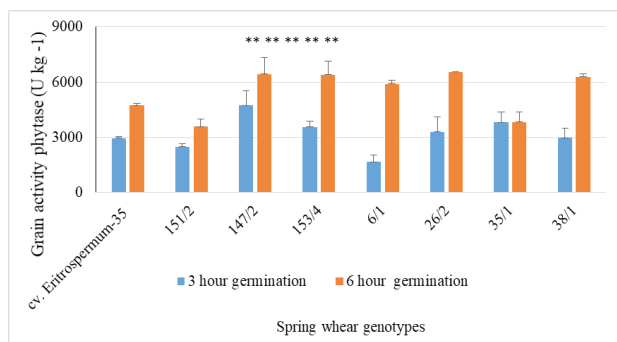
The genotypic variation in PhyA of cv. Eritrospermum-35, the parent, and M<sub>7</sub> mutant lines depending on time of germination (3 and 6 hour) is shown in figure 2. Germination time from 3 to 6 hour enhanced grain PhyA by 1.47-fold in cv. Eritrospermum-35, and by 1.36-3.53-fold in mutant lines, indicating that the effect of germination on PhyA was strongly time and genotypes dependent. There was not germination time dependence of

PhyA in 35/1 numbered mutant line. Some mutant lines numbered as 147/2, 153/4, 6/1, 26/2, and 38/1 exhibit a significantly increased PhyA at 6 hour germination by 1.25-1.38 comparing cv. Eritrospermum-35 (\*\*p ≤ 0.01). Earlier reported on rice grain husks, bran, rootlets and shoots that phytase activity of all fractions increased significantly after germination, and was highest in brown rice followed by rice bran after four days of germination [33].

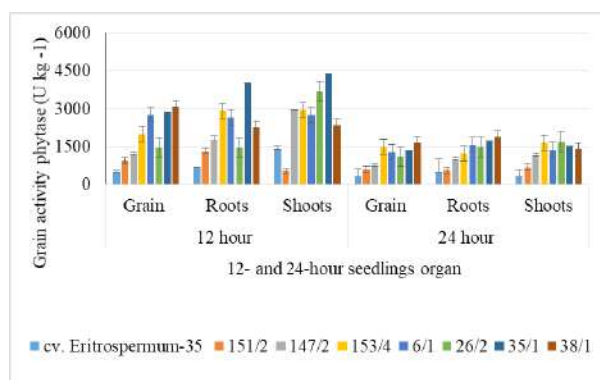
**Table 2** – Grain phytic acid content in spring wheat cv. Eritrospermum-35 (parent), M<sub>7</sub> 100 Gy- and 200 Gy-dosed mutant lines selected for study of effect of germination time on phytase activity and organ-specific distribution of phytase

Spring wheat genotypes	Grain phytic acid content, mg/g
Eritrospermum-35	2,74 ± 0.11
<i>100 Gy-dosed lines</i>	
151/2	2,90 ± 0.14
147/2	1,48 ± 0.17
153/4	0,77 ± 0.02
<i>200 Gy-dosed lines</i>	
6/1	2,26 ± 0.09
26/2	2,78 ± 0.12
35/1	1,30 ± 0.14
38/1	2,15 ± 0.33

The PhyA of cv. Eritrospermum-35 in grain, roots and shoots of 12-hour seedlings was 495.8, 694.1 and 1381.5 U kg<sup>-1</sup>, respectively, and that of mutant lines ranged from 942.0 to 3093.6, from 1322.0 to 4402.4 Ukg<sup>-1</sup>, and from 522.2 to 4402.4 Ukg<sup>-1</sup>, respectively, indicating that there is a greater difference between parent and line for shoots than other organs (figure 3). A mutant line numbered 35/1, had maximum PhyA in grain, roots, and shoots of 12-hour seedlings, which exceed the PhyA of cv. Eritrospermum-35 by 3.05-, 3.03- and 8.43-fold, respectively, which is valuable for spring wheat breeders in developing cultivars with high PhyA. In 24-hour seedlings, decrease in grain-, roots- and shoots- PhyA of cv. Eritrospermum-35 and mutant lines were observed with the highest mean in shoots (by 4.77- and 2.6- fold, respectively).



**Figure 2** – Effect of time germination on phytase activity (PhyA) in spring wheat cv. Eritrospermum-35 and 100 Gy- and 200 Gy-dosed  $M_7$  mutant lines differing by grain PA content. (\*\* $p \leq 0.01$ )



**Figure 3** – Effect of time germination (12- and 24 hour) on organ-specific distribution (grain, roots and shoots) of phytase activity (PhyA) in spring wheat cv. Eritrospermum-35 and 100 Gy- and 200 Gy-dosed  $M_7$  mutant lines differing by grain PA content. (\*\* $p \leq 0.01$ )

Thus, in our study, to search spring wheat new resource for high bioavailability of nutrients strongly related to low grain PA content and, spring wheat new genetically stable ( $M_7$ ) mutant lines which were 100 and 200 Gy treatments and the parent cv. Zhenis were investigated. The results indicate that these mutant resources of spring wheat can substantially increase the metals bioavailability and health impact of wheat end products. Using the abundant variation present in wheat mutant lines, it should be possible to improve mineral bioavailability in modern cultivars. Germination is an effective process to increase PhyA level.

## Conclusions

As a result of the research carried out, the following conclusions can be drawn:

Phytic acid particularly enhance solution as it related to an attendant loss of indigestible complexed nutrients and charged proteins in the waste and results in reduced their bioavailability in both humans and livestock. Large genotypic variation in PA content was found in spring wheat  $M_7$  100 Gy- and 200 Gy-dosed mutant lines developed on background of cv. Eritrospermum-35, parent. The 23 mutant genotypes of which mostly 200 Gy-treated lines had significantly lower grain PA content by 1.2- to 3.5-times than that parent, with its lowest mean of  $0.78 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1}$  in 100 Gy-dosed lines.

The variation in phytase activity of cv. Eritrospermum-35 and  $M_7$  mutant lines was depended on time germination (3 and 6 hours) and increasing time by twice enhanced grain PhyA to 1.47-fold in cv. Eritrospermum-35, and to 1.36-3.53-fold in mutant lines, indicating that the effect of germination on PhyA was strongly time and genotypes related.

Organ-specific distribution (grain, roots and shoots) of phytase activity in cv. Eritrospermum-35 and 100 Gy- and 200 Gy-dosed  $M_7$  mutant lines differing by grain PA content, in 12- and 24-hours seedlings showed gradual decrease in grain genotypic activity with the same its level in roots and shoots of both hours seedlings.

A mutant line numbered 35/1, had maximum PhyA in grain, roots, and shoots of 12-hour seedlings, which exceed the PhyA of cv. Eritrospermum-35 by 3.05-, 3.03- and 8.43-fold, respectively, which is valuable for spring wheat breeders in developing cultivars with high PhyA.

## Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest.

## Source of financing

The research was carried out on the basis of the scientific research institute of biology and biotechnology problems of the al-Farabi National University and was funded by the Ministry of Education and Sciences of the Republic of Kazakhstan under the Project 074/GF “The creation and study of mutant genotypes of wheat for identifying valuable breeding forms and new alleles of genes controlling key adaptive properties” and AP05131881 “Development of integrated approaches for biofortification, high bioavailability of the most important micronutrients of spring wheat and health”.

## References

- 1 Marounek, M., Skřivan, M., Rosero, O., Rop, O. "Intestinal and total tract phytate digestibility and phytase activity in the digestive tract of hens fed a wheat-maize-soyabean diet". *J. Anim. Feed Sci.* Volume, 19 (3) (2010): 430–439.
- 2 Brinch-Pedersen, H., Madsen, C.K., Holme, I.B., Dionisio, G. "Increased understanding of the cereal phytase complement for better mineral bio-availability and resource management". *J. Cereal Sci.* Volume 59, (2014): 373–381.
- 3 Madsen, C.K., Brinch-Pedersen, H. "Molecular Advances on phytases in barley and wheat". *Int. J. Mol. Sci.* Volume 20, (2019): 2459; doi:10.3390/ijms20102459.
- 4 Gupta, R.K., Gangoliya, Sh.S., Singh, N.K. "Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains". *J. Food Sci. Technol.*, Volume 52(2), (2015): 676–684.
- 5 Bohn, L., Josefsen, L., Meyer, A.S., Rasmussen, S.K. "Quantitative analysis of phytate globoids isolated from wheat bran and characterization of their sequential dephosphorylation by wheat phytase". *J. Agric. Food Chem.* Volume 55, (2007): 7547–7552.
- 6 Bethke, P. "From storage Compartment to Lytic Organelle: The Metamorphosis of the aleurone protein storage vacuole". *Ann. Bot.* Volume 82, (1998): 399–412.
- 7 Borrill, P., Connorton, J.M. Balk, J., Miller, A.J., Sanders, D., Uauy, C. "Biofortification of wheat grain with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops". *Front Plant Sci.* Volume, 5 (2014):1-8.
- 8 Bouis, H.E., "Special issue on improving human nutrition through agriculture". *Food Nutr. Bull.*, Volume 21, (2000): 351-576.
- 9 Welch, R.M., Graham, R.D. "Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective". *J. Exp. Bot.*, Volume 55, (2004): 353-364.
- 10 Shahzad, Z., Rouached, H., Rakha, A. "Combating mineral malnutrition through iron and zinc biofortification of cereals". *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, Volume 13, (2014): 329-346.
- 11 Balyan, H.S., Gupta, P.Km. Kumar, S., Dhariwal, R., Jaiswal, V. et al. "Genetic improvement of grain protein content and other health-related constituents of wheat grain". *Plant Breeding*, Volume 32, (2013): 446-457.
- 12 Badone, F.C., Amelotti, M., Cassani, E, Pilu, R. "Study of low phytic acid1-7 (*lpa1-7*), a New *ZmMRP4* mutation in maize". *J. of Heredity*, Volume 103(4), (2012): 598–605.
- 13 Kishor, D.S., Lee, C, Lee, D., Venkatesh, J., Seo, J., Chin, J.H., et al. "Novel allelic variant of *Lpa1* gene associated with a significant reduction in seed phytic acid content in rice (*Oryza sativa* L.)". *PLoS ONE*, Volume 14(3): (2019): 0209636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209636>.
- 14 Brinch-Pedersen, H., Hatzack, F., Sorensen, L.D., Holm, P.B. "Concerted action of endogenous and heterologous phytase on phytic acid degradation in seed of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.)". *Transgenic Res* Volume 12, (2003): 649–659.
- 15 Kuwano, M., Mimura, T., Takaiwa, F., Yoshida, K.T. "Generation of stable 'low phytic acid' transgenic rice through antisense repression of the 1D-myoinositol 3-phosphate synthase gene (*RINO1*) using the 18-kDa oleosin promoter". *Plant Biotechnol J.* Volume 7, (2009): 96–105.
- 16 Parry, M.A., P.J. Madgwick, C. Bayon, Tearall, K, Hernandez-Lopez, A. et al. "Mutation discovery for crop improvement". *J. Exp. Bot.*, Volume 60, (2009): 2817-2825.
- 17 Raboy, V., Gerbasi, P.F., Young, K.A., Stoneberg, S.D., Pickett, S.G., Bauman, A.T., et al. "Origin and seed phenotype of maize low phytic acid 1–1 and low phytic acid 2–1". *Plant Physiology*. Volume 124(1), (2000): 355–68. PMC59149. PMID: 10982449.
- 18 Pilu, R., Panzeri, D., Gavazzi, G., Rasmussen, S.K., Consonni, G., Nielsen, E. "Phenotypic, genetic and molecular characterization of a maize low phytic acid mutant (*lpa241*)". *Theoretical and applied genetics*. Volume 107(6), (2003): 980–987.
- 19 Dorsch, J.A., Cook, A., Young, K.A., Anderson, J.M., Bauman, A.T., Volkmann, C.J., et al. "Seed phosphorus and inositol phosphate phenotype of barley low phytic acid genotypes". *Phytochemistry*. Volume 62(5), (2003): 691–706.
- 20 Hitz, W.D., Carlson, T.J., Kerr, P.S., Sebastian, S.A. "Biochemical and molecular characterization of a mutation that confers a decreased raffinose and phytic acid phenotype on soybean seeds". *Plant Physiology*. Volume 128(2), (2002): 650–660.
- 21 Liu, Q.L., Xu, X.H., Ren, X.L., Fu, H.W., Wu, D.X., Shu, Q.Y. "Generation and characterization of low phytic acid germplasm in rice (*Oryza sativa* L.)". *TAG Theoretical and applied genetics*. Volume 114(5), (2007): 803–814.
- 22 Guttieri, M., Bowen, D., Dorsch, J.A., Raboy, V., Souza, E. Erratum. "Identification and characterization of a low phytic acid wheat". *Crop Science*. Volume 44(2), (2004): 418–424.
- 23 Kenzhebayeva, S.S., Doktyrbay, G., Capstaff, N.M., Sarsu, F., Omirbekova, N.Zh. et al., "Searching a spring wheat mutation resource for correlations between yield, grain size, and quality parameters". *Crop Improv.* Volume 31, (2017): 208-228.
- 24 Kenzhebayeva, S., Abekova, A., Atabayeva, S., Yernazarova, G., Omirbekova, N., Zhang, G., Turasheva, S., Asrandina, S., Sarsu, F., Wang, Y. "Mutant lines of spring wheat with increased iron, zinc, and micronutrients in grains and enhanced bio-availability for human health". *Research article. Biomed. Research internat.* Volume 10, (2019):1-10. Article ID 9692053, doi: 10.1155/2019/9692053. (2019).
- 25 Dai, F., Wang, J.M., Zhang, S.H., Xu, Z.Z., Zhang, G.P. "Genotypic and environmental variation in phytic acid content and its relation to protein content and malt quality in barley". *Food Chem.* Volume 105, (2007): 606-611.
- 26 Centeno, C., Viveros, A., Brenes, A., Lozano, A., Cuadra, C. D. "Effect of several germination conditions on total P, phytate P, phytase, acid phosphatase activities and inositol phosphate esters in spring and winter wheat. *J. Agric. Sci.* Volume 141, (2003): 313-321.

- 27 Gibson, R.S., Bailey, K.B., Gibbs, M., Ferguson, E.L. "A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability". *Food Nutr Bull.* Volume 31(2S), (2010): 134-146.
- 28 Zhao, F.J., Su, Y.H., Dunham, S.J., Rakszegi, M., Bedo, Z., McGrath, S.P., Shewry, P.R. "Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin". *J. Cereal Sci.* Volume 49, (2009): 290–295.
- 29 Ahmad, I.; Mohammad, F.; Zeb, A.; Noorka, R.I.; Farhatullah, Jadoon, S.A. "Determination and inheritance of phytic acid as marker in diverse genetic group of bread wheat". *Am J of Mol. Biol.* Volume 3, (2013): 158-164.
- 30 Erdal, I., Yilmaz, A., Taban, S., Eker, S., Torun, B., Cakmak, I. "Phytic acid and phosphorus concentrations in seeds of wheat cultivars grown with and without zinc fertilization". *J Plant Nutr.* Volume 25, (2002), 113–127.
- 31 Frontela, C., Ros, G., Martínez, C. "Phytic acid content and "in vitro" iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing". *J Cereal Sci.* Volume 54, (2011): 173-179.
- 32 García-Estépa, R.M., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B. "Phytic acid content in milled cereal products and breads". *Food Res Int.* Volume 32, (1999): 217-221.
- 33 Sangsopha, J., Moongngarm, A. "Influence of germination on mineral bioavailability and phytic acid content in rice". *Food and applied bioscience J.*, Volume 6 (sp. issue), (2018): 69–83.



**A.Zh. Khametova<sup>1\*</sup>** , **N.P. Zueva<sup>1</sup>** , **E.R. Fatkhudinova<sup>1</sup>** , **A.V. Lovinskaya<sup>1</sup>** ,  
**S.Zh. Kolumbayeva<sup>1</sup>** , **T.M. Shalakhmetova<sup>1</sup>** , **S.K. Abilev<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academic Science, Russia, Moscow,

\*e-mail: Khametova.amina@gmail.com

## TOXIC AND MUTAGENIC ACTIVITY OF WATER SAMPLES FROM NATURAL SOURCES OF THE ENBEKSHIKAZAKH DISTRICT OF THE ALMATY REGION

The current ecological situation sharply raises the question of checking water sources for mutagenic, genotoxic, and phytotoxic activity. An increase in human activity around water sources increases the risk of surface water pollution by various emissions and wastes, an increase in the concentration of various pollutants in the aquatic environment can lead to mutagenic activity of this source. Since the rivers Esik, Turgen, and Lake Esik, located in the Enbekshikazakh district of the Almaty region, are close to highways, various enterprises and proximity to human activities, the risk of pollution is continually increasing. As a result of physicochemical analysis of the composition of water samples, an excess of the maximum permissible concentration for manganese, lead, zinc, and cadmium was found. The Allium-test revealed toxicity and mutagenicity of the studied water samples. The phytotoxic activity was observed in the water of the River Esik, manifested in the inhibition of onion root growth. Cytotoxic activity in the water of the rivers Esik, Turgen, and Lake Esik was manifested in a statistically significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) in the mitotic index compared to the negative control (distilled water). A weak mutagenic activity was established in water samples from the river. Esik, Turgen and Lake Esik, manifested in a statistically significant increase in the level of chromosomal aberrations in the cells of the root meristem of onions when germinating in water from these water bodies, compared with negative control ( $p \leq 0.05$ ). Thus, the obtained results of the study of the toxic and mutagenic potential of natural surface waters from water bodies located on the territory of the Enbekshikazakh district of the Almaty region indicate their contamination with environmentally hazardous factors that pose a threat to biota and human health.

**Key words:** natural surface waters, heavy metals, Allium test, mitotic index, chromosomal aberrations.

А.Ж. Хаметова<sup>1\*</sup>, Н.П. Зуева<sup>1</sup>, Е.Р. Фатхудинова<sup>1</sup>, А.В. Ловинская<sup>1</sup>,  
С.Ж. Колумбаева<sup>1</sup>, Т.М. Шалахметова<sup>1</sup>, С.К. Абилев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>РГА Н.И. Вавилов атындағы Жалпы генетика институты, Ресей, Мәскеу қ.

\*e-mail: Khametova.amina@gmail.com

### Алматы облысы Еңбекшіқазақ ауданының табиғи су көздерінен алынған үлгілердің токсиндік және мутагендік қызметі

Қазіргі экологиялық жағдай су көздерін мутагендік, генотоксикалық және фитотоксикалық белсенділікке тексеру мәселесін күрт көтереді. Су көздерінің айналасындағы адамдардың белсенділігінің артуы жер үсті суларының әртүрлі шығарындылар мен қалдықтармен ластану қаупін арттырады, сулы ортадағы әртүрлі ластаушы заттардың концентрациясының жоғарылауы осы көздің мутагендік белсенділігіне әкелуі мүмкін. Алматы облысы Еңбекшіқазақ ауданында орналасқан Есік, Түрген және Есік өзендері автомобиль жолдарына, әртүрлі кәсіпорындарға және адам қызметіне жақын болғандықтан, ластану қаупі үнемі артып келеді. Су үлгілері құрамын физика-химиялық талдау нәтижесінде марганец, қорғасын, мырыш және кадмий шекті рұқсат етілген концентрациядан асатыны анықталды. Allium-тест зерттелген су үлгілерінің уыттылығы мен мутагендігін анықтады. Есік өзенінің суында пияз тамырының өсуіне кедергі келтіретін фитотоксикалық белсенділік байқалды. Есік, Түрген өзендері және Есік көліндегі цитотоксикалық белсенділік теріс бақылауға (дистилденген су) қарағанда, митоздық индекстің статистикалық маңызды төмендеуінде ( $p \leq 0.05$ ) байқалды. Өзеннің су үлгілерінде әлсіз мутагендік белсенділік байқалды. Есік, Түрген өзендері және Есік көлінде, теріс бақылауға

қарағанда, осы су объектілеріндегі суда өну кезінде пияздың тамырлық меристемасы клеткаларындағы хромосомалық атерация деңгейінің статистикалық тұрғыдан жоғарылауы көрінді ( $p \leq 0.05$ ). Осылайша, Алматы облысының Еңбекшіқазақ ауданының аумағында орналасқан су айдындарындағы табиғи жер үсті суларының уытты және мутагендік әлеуетін зерттеудің алынған нәтижелері, олардың биота мен адам денсаулығына қауіп төндіретін, экологиялық қауіпті факторлармен ластанғанын көрсетеді.

**Түйін сөздер:** табиғи беткі сулар, ауыр металдар, аллий сынағы, митоздық индекс, хромосомалық аберрациялар.

А.Ж. Хаметова<sup>1\*</sup>, Н.П. Зуева<sup>1</sup>, Е.Р. Фатхудинова<sup>1</sup>, А.В. Ловинская<sup>1</sup>,  
С.Ж. Колумбаева<sup>1</sup>, Т.М. Шалахметова<sup>1</sup>, С.К. Абишев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, г. Москва

\*e-mail: Khametova.amina@gmail.com

### Токсическая и мутагенная активность образцов воды из природных источников Енбекшиказахского района Алматинской области

Современная экологическая ситуация остро ставит вопрос о проверке водных источников на мутагенную, генотоксическую и фитотоксическую активность. Повышение человеческой деятельности вокруг водных источников увеличивает риск загрязнения поверхностных вод разнообразными выбросами и отходами, повышение концентрации разных загрязнителей в водной среде может привести к мутагенной активности этого источника. Так как реки Есик, Турген и озеро Есик, расположенные в Енбекшиказахском районе Алматинской области, находятся вблизи от автомобильных трасс, различных предприятий и в непосредственной близости к человеческой деятельности, то риск загрязнения постоянно возрастает. В результате физико-химического анализа состава образцов воды было обнаружено превышение предельно допустимой концентрации по марганцу, свинцу, цинку и кадмию. В Allium-тесте выявлена токсичность и мутагенность изученных образцов воды. Наблюдалась фитотоксическая активность в воде р. Есик, проявляющаяся в ингибировании роста корней лука. Цитотоксическая активность в воде рек Есик, Турген и озера Есик проявилась в статистически значимом снижении ( $p \leq 0,05$ ) митотического индекса по сравнению с негативным контролем (дистиллированная вода). Установлена слабая мутагенная активность в образцах воды из р. Есик, Турген и оз. Есик, проявившаяся в статистически значимом увеличении уровня хромосомных аберраций в клетках корневой меристемы лука при прорастивании на воде из данных водных объектов, по сравнению с негативным контролем ( $p \leq 0,05$ ). Таким образом, полученные результаты исследования токсического и мутагенного потенциала природных поверхностных вод из водных объектов, находящихся на территории Енбекшиказахского района Алматинской области, свидетельствуют об их загрязненности экологически опасными факторами, представляющими угрозу для биоты и здоровья человека.

**Ключевые слова:** поверхностные природные воды, тяжелые металлы, Allium-тест, митотический индекс, хромосомные аберрации.

## Introduction

Large-scale pollution of the environment by ecologically critical factors of different nature, most of which have toxic, mutagenic, carcinogenic properties, poses a specific threat to human health and the inhabitants of natural ecosystems. The pollution of natural waters, which are vital resources for humans, is of great concern. This problem is caused by an increase in the use of highly hazardous pollutants in the industry, which are not utilized and accumulate in the environment [1].

As of August 2020, the CAS database (USA) contains information about 164 million different chemical compounds that are used in many areas of human activity [2]. Industrial wastes are alien to

the environment and pose a threat to the sustainable development of the ecosystem, having a mutagenic effect on the genetic apparatus of living organisms. One of the most widespread and dangerous pollutants are heavy metals, the danger of which, unlike organic pollutants, is that they do not lend themselves to natural biochemical degradation, are stable in the environment, and for a long time are part of the biogeochemical cycle [3]. To solve this environmental problem and protect water resources around the world, studies on the study of the mutagenic and genotoxic potential of surface waters have become relevant [4-11].

Kazakhstan belongs to the category of countries with a significant deficit of water resources. In terms of water supply, Kazakhstan ranks last

among the CIS countries. The specific water supply is 37 thousand m<sup>3</sup> per 1 km<sup>2</sup> and 6.0 thousand m<sup>3</sup> per person per year. On the territory of Kazakhstan, there are about 39 thousand rivers and temporary streams, more than 48 thousand lakes, about 4 thousand ponds, and 204 reservoirs. According to the RSE “Kazhydromet” of the Ministry of Energy of the Republic of Kazakhstan for June 2020, out of 87 surveyed water bodies (58 rivers, 8 reservoirs, 19 lakes, 1 canal, 1 sea), according to the Unified classification, water quality 2 rivers belong to class 1 (best), and the rest to grades 2-5 (moderate, worst and worst quality) [12].

The primary method for monitoring water quality in Kazakhstan are physical and chemical analysis. This type of analysis is based on the determination of the content of numerous components of pollutants in water and comparison with the MAC indicators, based on the data obtained, conclusions are drawn about the “safety” or “non-safety of water”, however, the data obtained do not provide an evidence base on the cytotoxic and mutagenic effects of water [12]. In contrast to physical and chemical control, biological monitoring allows us to correctly assess and predict deviations in the state of biological systems from the normal response caused by anthropogenic or technogenic factors. The *Allium* test is the reference method among plant test systems to identify mutagenicity and phytotoxicity of water. *Allium*-test is a plant test system with high informative properties for cytogenetic analysis, in which various types of chromosomal abnormalities are recorded. The inductive factor in the occurrence of chromosomal aberrations is direct mutagens and promutagens. Direct mutagens tend to cause disturbances directly in the DNA itself, and promutagens are substances that do not possess direct mutagenic properties but acquire the ability to change DNA during biochemical reactions in the body. The indicators of the *Allium* test correlate well with the results obtained on other objects, including mammalian cells [13, 14]

In connection with the above, the purpose of this study was to study the phyto-, cytotoxic and mutagenic effects of the water of the Esik, Turgen rivers and the Esik lake of the Enbekshikazakh district of the Almaty region.

## Materials and Methods

The test object of the study was onion (*Allium cepa* L.). The objects of study are water samples from 6 points: the Esik river (point #1: in the city of Esik, 43°22'2.16" N, 77°26'20.07" E, point #2 – in

the area of the Kuldzhinsk highway, 43°25'18.87" N, 77°21'46.70" E), Lake Esik (point #3: northern shore, 43°15'17.74" N, 77°28'59.19" E; point#4: southern shore, 43°15'12.33" N, 77°28'49.18" E), Turgen river (point #5 – upper reaches of the river: 43°16'14.98" N, 77°44'21.39" E, point#6 – near the Almaty-Khorgos highway, 43°31'44.31" N, 77°34'7.46" E). Methyl methanesulfonate (MMS, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S) at a concentration of 10 mg/L was used as a positive control, and distilled water was used as a negative control.

The selection, filtration, and conservation of water samples were carried out by GOST 31861-2012 [15]. For the experiment, 5 liters of water were collected from each source. Before starting the experiment, the collected water was filtered to remove suspended clay and sand. Several drops of nitric acid were added to the water to prevent the development of bacterial microflora. At the site of sampling of surface water, measurements of the physical parameters of water were carried out: hydrogen index (pH) using a portable analyzer pH-meter PH-009 (I) (Barry Century, China), total salinity (salts dissolved in water) using a portable analyzer TDS & EC-meter (Barry Century, China), *Oxidation-reduction potential* (ORP) using a portable ORP analyzer ORP169E (Barry Century, China), oxygen dissolved in water using a portable DO-pen type (Alvin Instrument, China).

The content of heavy metals was determined by the atomic absorption method on an MGA-915MD atomic absorption spectrophotometer (Lumex, Russia) according to PND F 14.1: 2.214-06 [16]. The concentration was calculated using the formula (1) and then analyzed the graphs:

$$C = \frac{a \times V_1 \times k}{V_2} \quad (1)$$

where  $a$  is the concentration of the element in the solution (mg/l; µg/ml),  $V_2$  is the volume in the test tubes (mL),  $V_1$  is the initial volume (1000 mL),  $k$  is the dilution factor.

*Allium cepa* onions (2n = 16) were used for the *Allium* test. The bulbs were physiologically and genetically homogeneous, the weight of the bulbs was about 20 g. The bulbs were placed in filtered water samples (five replicates – to determine phytotoxicity, five replicates – to determine the cytotoxicity and mutagenicity of water) and germinated at room temperature. The length of the roots was measured on the 7th and 14th days to determine phytotoxicity [17]. The phytotoxicity of water samples was assessed by the percentage of

inhibition of onion root growth. The percentage of inhibition was calculated using the formula (2):

$$PI\% = \frac{C-E}{C} * 100\%, \quad (2)$$

where C is the average length of onion roots in the control sample, E is the average length of onion roots in the studied sample [18].

To determine the cytotoxicity and mutagenicity of water, roots no more than 1 cm long were fixed in an alcohol-acetic solution in a ratio of 3:1. Staining was performed with acetocarmine. Cytological preparations were analyzed using an Olympus BX 43F microscope (Olympus, Japan). To determine the mitotic index (MI) in each variant, at least a thousand cells of the embryonic meristem of *Allium cepa* L bulbs were analyzed. After calculating the mitotic index, a conclusion was made about the intensity of division, or vice versa, about the inhibition of cell proliferation. The mutagenic activity of the water source was determined by the ana-telophase method [19, 20].

Statistical processing was carried out in the add-in "Data Analysis" Microsoft Excel. In all cases, the mean values and errors of the mean were determined. The significance of the mean differences was assessed using the Student's t-test. Differences were considered significant at a confidence level of 0.95 ( $p < 0.05$ ).

### Research results and their discussion

It is essential to test the water before using it for drinking, household, agricultural or industrial use. The water must be tested for various physical and chemical parameters. Special services for water quality control must regularly check the following physical and chemical parameters: temperature, pH, electrical conductivity, CO<sub>2</sub> content in water, alkalinity, dissolved oxygen, biological oxygen demand, chemical oxygen demand, carbonate, bicarbonate, sulfate, nitrate, chloride content, silicates, phosphates, calcium, magnesium, sodium and potassium ions [21].

The main processes that ensure the vital activity of any organism are redox reactions, i.e., reactions associated with the transfer or attachment of electrons. If the drinking water entering the body has an ORP close to the value of the ORP of the internal environment of the human body, then the electrical energy of the cell membranes (vital energy of the body) is not spent on correcting the activity

of electrons in water and water is immediately absorbed, since it has biological compatibility in this parameter. Usually, the ORP of the human body ranges from -90 mV to -200 mV, and the ORP of ordinary drinking water is almost always significantly higher than zero, tap water – from +80 mV to +300 mV [22].

Electrical conductivity (EC) shows a significant correlation with parameters such as temperature, pH value, alkalinity, total salt, total dissolved salts, chemical oxygen demand, chloride, iron, calcium concentration in water [23].

Dissolved oxygen (DO) is one of the most important parameters. This indicator correlates with bacterial activity, photosynthesis, nutrient availability, stratification, etc. During the summer, dissolved oxygen can decrease due to increased temperatures and also due to increased microbial activity [21]. The oxygen content in surface waters is an indirect characteristic of assessing the quality of surface waters [23].

The results of measuring the physical parameters of the studied water samples from the rivers Esik, Turgen, and Lake Esik are presented in Table 1. In the Enbekshikazakh region in the studied water bodies (the Esik river, Esik lake, Turgen river), the range of temperature values mainly fluctuated in the range of 3.9-7.2°C, except for the river Esik, point#2 (20.4°C). The higher temperature of the samples at these points of the river Esik is connected with the shallow water of the river at this point. pH values in water samples rivers Esik and Turgen were 5.5-6.6 (neutral and slightly alkaline waters), Lake Esik – 5.0 (slightly acidic waters). Total Dissolved Solids, pH, electrical conductance, oxidation-reduction potential of water in the studied water bodies corresponded to the normative indicators [24]. Indicators of dissolved oxygen should be 4 mg/L for drinking water, use 6 mg/L for water bodies for a fishery. Low levels of dissolved oxygen in the studied waters indirectly indicate their pollution.

The contents of nickel, manganese, cobalt, lead, chromium, iron, zinc, copper, and cadmium were determined in water from rivers Esik, Turgen, and Lake Esik using the atomic absorption method (Table 2). In the Esik River, the content of manganese exceeded the MAC 1.6 times, lead – 1.4 times, zinc – 3.7 times. In the Turgen River, the content of manganese exceeded the MAC by 7.3 times, lead – 1.1 times, zinc – 1.5 times. In the Lake Esik, the content of manganese exceeded the MAC by 2.4 times, lead – 1.1 times, cadmium – 1.1 times. For other heavy metals, no excess of MAC was observed.

**Table 1** – Physical parameters of water samples from water bodies of the Enbekshikazakh district of the Almaty region

Water samples	Temperature (°C)	pH	ORP (mv)	TDS (ppm)	EC (µS/cm)	DO (mg/L)
Esik River, point #1	4.1	5.6	+97.0	89.0	162.0	5.6
Esik River, point #2	20.4	6.6	+81.0	80.0	157.0	2.8
Esik Lake, point #3	4.9	5.0	+102.0	131.0	277.0	5.9
Esik Lake, point #4	5.1	5.0	+111.0	129.0	269.0	5.5
Turgen River, point#5	3.9	5.5	+88.0	110.0	131.0	3.1
Turgen River, point#6	7.2	5.6	+80.0	86.0	142.0	5.5
Standards	-	6.0-9.0	+80.0-300.0	50.0-150.0	100.0- 1200.0	4.0-6.0

Note: ORP – Oxidation-reduction potential, TDS – Total Dissolved Solids, EC – electrical conductance, DO – dissolved oxygen

The excess of the MAC for Mn in the studied water of the river and Lake Esik is possibly associated with the specific geochemical features of the study area [25]. According to Petryakova O.D. and Fominova E.A., an increase in the manganese level may be associated with a decrease in the water level in the reservoir. With a decrease in the water level in natural reservoirs, the processes of eutrophication are accelerated, that is, the saturation of natural reservoirs with biogenic substances, which is accompanied by an increase in the productivity of water basins [26].

The results obtained indicate the pollution of natural waters with heavy metals, which can harm living organisms and lead to the appearance of toxic and mutagenic activity of the studied water bodies.

The phytotoxicity of the studied water samples was assessed by measuring the length of the root system of onion (*A. cepa*) when germinated it on various water samples. The effect was considered phytotoxic if not only inhibiting, but also eutrophying (stimulating) effect was detected. The results of studying the intensity of growth of *A. cepa* roots during germination on water samples of the studied water bodies are presented in Table 3.

As shown in Table 3, the positive control MMS statistically significantly inhibited the growth of *A. cepa* roots, the inhibitory effect of which on the 7th and 14th days of germination was 35% and 71%, respectively. At 7 and 14 days of onion germination, water samples from the river Esik On day 7, the inhibitory effect was 14% and 17% in point#1 and point#2, respectively. On the 14th day, this indicator was 18% in point#1, and 27% in point#2. In water samples from Lake Esik (point#3), a eutrophying effect was revealed, which was 35% on day 7 and 31% on day 14 of exposure. No phytotoxic effect

was found at point #4. In water samples from the River Turgen, the inhibitory effect was not revealed.

In the works of Dovgalyuk A.I., one of the factors inhibiting the growth of roots of *Allium cepa* L. is an increased content of several heavy metals (lead, cadmium), which leads to disruption of the functioning of the actin cytoskeleton, as a result of which inhibition of the growth of cells and organs and changes in the architecture of the root system [27]. According to Melnichuk Yu.P., heavy metals are capable of causing morphophysiological changes in the nuclear apparatus, and also changes the conformation of the active center of the ribonuclease enzyme. The enzyme loses its catalytic ability and remains in an inactive state, and leads to a reduction in dividing cells, and in the duration of the metaphase of mitosis [28].

The mitotic index is calculated to determine the intensity of cell division of the meristematic tissue (Table 4). Changes in the proliferative activity of cells can be considered as an integral indicator of the negative impact of factors on the body. The mitotic index can indicate the proliferative activity of cells, the suppression of the process of cell division, or, conversely, an increase in the mitotic activity of tissues [19, 20]. Water samples from rivers were compared with a negative control: distilled water, and for final confirmation with a positive control: MMS at a concentration of 10 mg/L.

Analysis of the mitotic activity of the cell population of the apical meristem of onion roots germinated on water samples from the Esik and Turgen rivers showed inhibition of cell division of the embryonic root meristem compared with negative control under prolonged exposure. Water samples from Lake Esik showed a mitosis-stimulating effect with 24-hour exposure.

**Table 2** – The content of heavy metals in water samples from water bodies of the Enbekshikazakh district of the Almaty region

Water samples	The content of heavy metals (mg/dm <sup>3</sup> )								
	Ni	Mn	Co	Pb	Cr	Fe	Zn	Cu	Cd
Esik River, point #1	0.0025± 0.0003	0.0131± 0.0001*	0.0019± 0.0003	0.0061± 0.0001*	0.0080± 0.0002	0.0340± 0.0003	0.0351± 0.0002*	0.0007± 0.0001	0.0005± 0.0001
Esik River, point #2	0.0018± 0.0002	0.0155± 0.0002*	0.0038± 0.0002	0.0083± 0.0002*	0.0032± 0.0001	0.0264± 0.0002	0.0372± 0.0001*	0.0004± 0.0001	0.0004± 0.0001
Esik Lake, point #3	0.0005± 0.0001	0.0192± 0.0007*	0.0026± 0.0001	0.0036± 0.0002	0,0026± 0,0002	0,0060± 0,0001	0.0061± 0.0001	0.0034± 0.0001	0.0003± 0.0001
Esik Lake, point #4	0.0016± 0.0003	0.0242± 0.0003*	0.0020± 0.0002	0.0065± 0.0002*	0.0025± 0.0001	0.0055± 0.0001	0.0110± 0.0001	0.0007± 0.0001	0.0011± 0.0001*
Turgen River, point#5	0.0081± 0.0000	0.0730± 0.0002*	0.0032± 0.0001	0.0057± 0.0002	0.0052± 0.0001	0.0135± 0.0001	0.0055± 0.0003	0.0005± 0,0001	0.0004± 0.0001
Turgen River, point#6	0.0015± 0.0002	0.0340± 0.0003*	0.0021± 0.0002	0.0065± 0.0002*	0.0048± 0.0003	0.0174± 0.0001	0.0154± 0.0002*	0.0007± 0.0001	0.0003± 0.0001
MAC	0.01	0.01	0.01	0,006	0,02	0,1	0,01	0.001	0,001

Note. \* exceeds or at the level of MAC

**Table 3** – The average length of the roots of onions germinated on water samples from the Enbekshikazakh district of the Almaty region

Experimental groups	The average length of the roots, cm	
	7 days	14 days
Distilled water	3.09±1.51	4.18±0.05
MMS (10.0 mg/L)	2.05±0.87	1.19±0.76*
Esik River, point #1	2.65±1.74	3.45±1.58*
Esik River, point #2	2.51±2.04	3.04±1.82*
Esik Lake, point #3	4.75±1.15*	6.13±0.43*
Esik Lake, point #4	3.15±0.34*	4.15±0.32
Turgen River, point#5	3.07±0.06	4.17±0.10
Turgen River, point#6	4.34±0.14	4.70±0.10

Note: \* -p <0.05 in comparison with negative control (dH<sub>2</sub>O)

**Table 4** – Mitotic index of cells of the meristematic zone of the roots of *Allium cepa* germinated on water samples from water bodies of the Enbekshikazakh district of the Almaty region

Experimental groups	Mitotic index (%)			
	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Distilled water	3.19±0.37	2.99±0.17	3.03±0.11	3.91±0.12
MMS (10.0 mg/L)	2.01±0.18	0.99±0.45*	0.52±0.25*	1.08±0.46*
Esik River, point #1	2.83±0.34	1.88±0.18*	2.69±0.11	3.09±0.09*
Esik River, point #2	2.29±0.50*	2.34±0.18	2.33±0.17*	2.87±0.12*
Esik Lake, point #3	4.39±0.48*	2.77±0.39	3.03±0.29	3.81±0.35
Esik Lake, point #4	4.57±0.43*	2.69±0.18	2.98±0.29	3.28±0.34*
Turgen River, point#5	2.94±0.28	2.35±0.50	2.77±0.03*	2.70±0.50*
Turgen River, point#6	2.80±0.09	1.34±0.31*	2.23±0.48*	3.33±0.10

Note: \* -p <0.05 in comparison with negative control (dH<sub>2</sub>O)

Along with phytotoxic and cytotoxic activity, the water source may have mutagenic activity, which adversely affects living organisms (Table 5). The determination of the mutagenic activity of water samples was carried out by the ana-telophase method of analysis of cells of the apical actively dividing root meristem of onions

germinated on the studied water samples, taking into account the structural abnormalities of chromosomes of different types in the anaphase and telophase of mitosis. In the cell population grown on the mutagen, the following disturbances were observed: micronuclei, point fragments, lags.

**Table 5** – Percentage of chromosomal aberrations in water samples from water bodies of the Enbekshikazakh district of the Almaty region

Experimental groups	Total cells studied	Frequency of aberrant cells (M ± m%)
Distilled water	490	1.63 ± 0.57
MMS (10,0 mg/L)	530	5.66 ± 1.00**
Esik River, point #1	487	2.46±0.70
Esik River, point #2	490	3.67±0.85*
Esik Lake, point #3	484	3.72±0.86*
Esik Lake, point #4	485	2.47±0.71
Turgen River, point#5	456	1.91±0.69
Turgen River, point#6	485	3.00±0.61*

Note: \* -p <0.05, \*\* p <0.01 in comparison with negative control (dH<sub>2</sub>O)

It can be seen that water from the river Esik (point #2), lake Esik (point #3), river Turgen (point #6) have weak mutagenic activity. Chromosomal abnormalities were presented in the form of anaphase bridges and chromosome lagging.

As a result of the ana-telophase method of accounting for chromosomal aberrations in the apical meristem of onions germinated on the water of the studied natural sources, the mutagenic activity of the studied water was revealed, which may be due to the presence of a complex of heavy metals. In the work of V.V. Babkin and A.A. Zavalin, a synergistic feature of lead was discovered by activating the toxic effect of other heavy metals [29]. In addition to heavy metals, various fertilizers, pesticides, components of exhaust gases, and so on, can get into the water, the toxic effect of which can also increase the frequency of chromosomal aberrations. An increase in the frequency of harmful mutations leads to an increase in the genetic load in populations of various types of organisms, including humans [1, 20]. In human society, the frequency of births of children with hereditary pathologies is increasing,

which causes some issue. Therefore, environmental monitoring, including genetic monitoring, of the state of the environment, including surface waters, should be mandatory and carried out by the relevant services.

### Conclusion

Thus, as a result of research, it was established that the MAC was exceeded for some heavy metals. The phytotoxic, cytotoxic, and mutagenic activity was shown for all studied surface waters. The results of the study of the toxic and mutagenic potential of natural surface waters from water bodies located on the territory of the Enbekshikazakh district of the Almaty region indicate their pollution with environmentally hazardous factors that pose a threat to biota and human health.

*This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP05130546, Project supervisor is A.V. Lovinskaya)*



## References

- 1 Абилев С.К., Глазер В.М. Мутагенез с основами генотоксикологии. – М.; СПб.: Нестор-История, 2015. – 304 с.
- 2 Актуальный размер базы Chemical Abstracts Service (CAS). URL: <http://www.cas.org/cgi-bin/cas/regreport.pl>
- 3 Bollani S., de Cabo L., Chagas C., Moretton J., Weigandt C., de Iorio A.F., Magdaleno A. Genotoxicity of water samples from an area of the Pampean region (Argentina) impacted by agricultural and livestock activities // Springer Nature. – 2018. – Vol. 190, № 7. – P. 420.
- 4 Castro e Sousa J.M. de, Peron A.P., Silva e Sousa L. da, Moura Holanda M. de, Macedo Vieira Lima A. de, Oliveira V.A. de, Silva F.C.C. da, Morais Lima L.H.G. de, Matos L.A., Moura Dantas S.M.M. de, Aguiar R.P.S. de, Islam M.T., Carvalho Melo-Cavalcante A.A. de, Bonecker C.C., Junior H.F.J. Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action // Environmental Monitoring and Assessment. – 2017. – Vol. 189, № 6. – P.301.
- 5 Ohe T., Watanabe T., Wakabayashi K. Mutagens in surface waters: A review // Mutation Research – Reviews in Mutation Research. – 2004. – Vol. 567, № 2–3 SPEC. ISS. – P.109–149.
- 6 Geras'kin S., Oudalova A., Michalik B., Dikareva N., Dikarev V. Geno-toxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means of Allium-test // Chemosphere. – 2011. – Vol. 83, № 8. – P. 1133–1146.
- 7 Ye Y., Weiwei J., Na L., Mei M., Donghong W., Zijian W., Kaifeng R. Assessing of genotoxicity of 16 centralized source-waters in China by means of the SOS/umu assay and the micronucleus test: Initial identification of the potential genotoxicants by use of a GC/MS method and the QSAR Toolbox 3.0 // Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2014. – Vol. 763. – P. 36–43.
- 8 Simonyan A., Gabrielyan B., Minasyan S., Hovhannisyan G., Aroutiounian R. Genotoxicity of Water Contaminants from the Basin of Lake Sevan, Armenia Evaluated by the Comet Assay in Gibel Carp (*Carassius auratus gibelio*) and Tradescantia Bioassays // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. – 2016. – Vol. 96, № 3. – P. 309–313.
- 9 Nie X., Liu W., Zhang L., Liu Q. Genotoxicity of drinking water treated with different disinfectants and effects of disinfection conditions detected by umu-test // Journal of Environmental Sciences (China). – 2017. – Vol. 56. – P. 36–44.
- 10 Bolognesi C., Buschini A., Branchi E., Carboni P., Furlini M., Martino A., Monteverde M., Poli P., Rossi C. Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants // Science of the Total Environment – 2004. – Vol. 333, № 1–3. – P. 127–136.
- 11 Liviac D., Wagner E.D., Mitch W.A., Altonji M.J., Plewa M.J. Genotoxicity of water concentrates from recreational pools after various disinfection methods // Environmental Science and Technology. – 2010. – Vol. 44, № 9. – P. 3527–3532.
- 12 РГП “Казгидромет” Министерство экологии, геологии и природных ресурсов РК. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан. – 2020. – Т. 248, №06. – С. 25. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.kazhydromet.kz/ecology/informacionnye-byulleteni-o-sostoyanii-okruzhayuschey-sredy-respubliki-kazahstan>
- 13 Fiskesjö G. The Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. Plants for environmental studies. – New York: CRC Press LLC, 2007. – P. 308 – 333.
- 14 Чернышева Н.Н., Хлебцова Л.П., Пронина Р.Д. Использование тест-системы Allium сера L. Для оценки генотоксичности воды р. Чумыш // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – Т. 3, № 137. – С. 95.
- 15 ГОСТ 31861-2012. Международный стандарт. Вода. Общие требования к отбору проб. – М.: Стандартинформ, 2013. – 64 с.
- 16 ПНД Ф 14.1:2.4.214-06. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовых концентраций железа, кадмия, кобальта, марганца, никеля, меди, цинка, хрома и свинца в питьевых, поверхностных и сточных водах методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии. – М., 2006. – 22 с.
- 17 Подовалова С.В., Иванютин Н.М. Оценка качества вод реки Салгир с использованием метода биотестирования // Научный журнал Российского НИИ проблем мелиорации. – 2017. – Т. 27, № 3. – С.127–143.
- 18 Романова А.Р., Тихонова С.В., Павлова А.И. Использование Allium сера как тест-объекта для оценки качества речных вод // Доклады Башкирского Университета. – 2016. – Т. 1, № 4. – С. 720–724.
- 19 Прохорова, И.М., Ковалева, М.И., Фомичева, А.Н. Генетическая токсикология: лабораторный практикум. – Ярославль: ЯрГУ, 2005. – 132 с.
- 20 Колумбаева С.Ж., Ловинская А.В., Калимагамбетов А.М. Цитогенетические методы в генетическом мониторинге. – Алматы: Қазақ ун-ті, 2018. – 161 с.
- 21 Patil P., Sawant D., Rn D. Physico-Chemical Parameters for Testing of Water—a Review // International Journal of Environmental Sciences – 2012. – Т. 3, № 3 – С. 1194–1207.
- 22 Кривошук А.С., Кулагин В.А. Изменение окислительно-восстановительного потенциала воды в результате кавитационной обработки // Вестник КрасГАУ – 2007. – № 2 – С. 139–146.
- 23 Прожорина Т.И. Эколого-аналитические методы исследования окружающей среды. – Воронеж: Истоки, 2010. – 304 с.
- 24 Санитарные правила «Санитарно-эпидемиологические требования к водоемным объектам, местам водозабора для хозяйственно-питьевых целей, хозяйственно-питьевому водоснабжению и местам культурно-бытового водопользования и безопасности водных объектов РК» утвержденный Министром от 16.03.2015. URL: [https://tengrinews.kz/zakon/pravitelstvo\\_respubliki\\_kazahstan\\_premier\\_ministr\\_rk/zdravoohranenie/id-V1500010774/](https://tengrinews.kz/zakon/pravitelstvo_respubliki_kazahstan_premier_ministr_rk/zdravoohranenie/id-V1500010774/)
- 25 Семенова И.Н. Оценка фитотоксичности поверхностных вод р. Карагайлы (Республика Башкортостан) // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 125.

- 26 Петрякова О.Д., Фоминова Е.А. Причины повышения концентрации марганца в природной и питьевой воде города Тольятти // Вестник Волжского университета имени В.Н. Татищева. – 2010. – № 6. – С. 3–7.
- 27 Довгалою А.И. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитология и генетика. – 2010. – Т. 32, №2. – С. 3-10.
- 28 Мельничук Ю.П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. – Киев: Наук. Думка, 1990. – 148 с.
- 29 Бабкин В.В., Завалин А.А. Физиолого-биохимические аспекты действия тяжелых металлов на растения // Химия в сельском хозяйстве. – 1995. – № 5. – С. 17 – 21.

## References

- 1 Abilev, S.K., and V.M. Glazer. *Mutagenesis s osnovami genotoksikologii* [Mutagenesis with the basics of genotoxicology]. Moscow; Saint Petersburg: Nestor-Istoriya, 2015.
- 2 Chemical Abstracts Service (CAS). URL: <http://www.cas.org/cgi-bin/cas/regreport.pl> (accessed August 8 2020)
- 3 Bollani, S., de Cabo, L., Chagas, C., Moreton, J., Weigandt, C., de Iorio, A.F., Magdaleno, A. "Genotoxicity of water samples from an area of the Pampean region (Argentina) impacted by agricultural and livestock activities." *Springer Nature* 190, no 7 (2018): 420
- 4 de Castro E Sousa, J.M., Peron, A.P., da Silva E Sousa, L., de Moura Holanda, M., de Macedo Vieira Lima, A., de Oliveira, V.A., da Silva, F.C.C., de Morais Lima, L.H.G., Matos, L.A., de Moura Dantas, S.M.M., de Aguiar, R.P.S., Islam, M.T., de Carvalho Melo-Cavalcante, A.A., Bonecker, C.C., Junior, H.F.J. "Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action." *Environmental Monitoring and Assessment* 189, no 6 (2017): 301.
- 5 Ohe, T., Watanabe, T., Wakabayashi, K. "Mutagens in surface waters: A review." *Mutation Research – Reviews in Mutation Research* 567, no 2-3 (2004): 109–149.
- 6 Geras'kin, S., Oudalova, A., Michalik, B., Dikareva, N., Dikarev, V. "Geno-toxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means of Allium-test." *Chemosphere* 83, no 8 (2011): 1133–1146.
- 7 Ye, Y., Weiwei, J., Na, L., Mei, M., Donghong, W., Zijian, W., Kaifeng, R. "Assessing of genotoxicity of 16 centralized source-waters in China by means of the SOS/umu assay and the micronucleus test: Initial identification of the potential genotoxicants by use of a GC/MS method and the QSAR Toolbox 3.0." *Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 763 (2014): 36–43.
- 8 Simonyan, A., Gabrielyan, B., Minasyan, S., Hovhannisyan, G., Aroutiounian, R. "Genotoxicity of Water Contaminants from the Basin of Lake Sevan, Armenia Evaluated by the Comet Assay in Gibel Carp (*Carassius auratus gibelio*) and Tradescantia Bioassays." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 96, no 3 (2016): 309–313.
- 9 Nie, X., Liu, W., Zhang, L., Liu, Q. "Genotoxicity of drinking water treated with different disinfectants and effects of disinfection conditions detected by umu-test." *Journal of Environmental Sciences (China)* 56 (2017): 36–44.
- 10 Bolognesi, C., Buschini, A., Branchi, E., Carboni, P., Furlini, M., Martino, A., Monteverde, M., Poli, P., Rossi, C. "Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants." *Science of the Total Environment* 333 no. 1–3 (2004): 127–136.
- 11 Liviak, D., Wagner, E.D., Mitch, W.A., Altonji, M.J., Plewa, M.J. "Genotoxicity of water concentrates from recreational pools after various disinfection methods" *Environmental Science and Technology* 44, no 9 (2010): 3527–3532
- 12 RSE "Kazhydromet" Ministry of Ecology, Geology and Natural Resources of the Republic of Kazakhstan. "Informatsionnyi biulleten' o sostoianii okruzhaiushchei sredy Respubliki Kazakhstan [Information bulletin on the state of the environment of the Republic of Kazakhstan]." URL: <https://www.kazhydromet.kz/ecology/informacionnye-byulleteni-o-sostoyanii-okruzhayushey-sredy-respubliki-kazahstan> (accessed August 8 2020)
- 13 Fiskesjö, G. *The Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. Plants for environmental studies.* New York: CRC Press LLC, 2007.
- 14 Chernysheva, N.N., Khlebova, L.P., Pronina, R.D. "Ispol'zovanie test-sistemy Allium cepa L. dlia otsenki genotoksichnosti vody r. Chumysh [Use of the test system Allium cepa L. to assess the genotoxicity of the river Chumysh]." *Bulletin of Altai State Agrarian University* 3, no 137 (2016): 95.
- 15 GOST 31861-2012. *Mezhdunarodnyy standart. Voda. Obshchie trebovaniya k otboru prob* [International standard. Water. General requirements for sampling]. Moscow: Standartinform, 2013.
- 16 PND F 14.1:2.4.214-06. *Kolichestvennyi khimicheskii analiz vod. Metodikaizmerenii massovykh kontsentratsii zheleza, kadmii, kobal'ta, margantsa, nikelia, medi, tsinka, khroma i svintsa v pit'evykh, poverkhnostnykh i stochnykh vodakh metodom plamennoi atomno-absorbtsionnoi spektrometrii* [Quantitative chemical analysis of waters. Methods for measuring mass concentrations of iron, cadmium, cobalt, manganese, nickel, copper, zinc, chromium and lead in drinking, surface and waste waters by the method of flame atomic absorption spectrometry]. Moscow: Standartinform, 2006.
- 17 Podovalova, S.V., Ivaniutin, N.M. "Otsenka kachestva vod reki Salgir s ispol'zovaniem metoda biotestirovaniia [Evaluation of the water quality of the Salgir river using the biotesting method]." *Scientific Journal of Russian RDI of Melioration Problems* 27, no 3 (2017): 127–143.
- 18 Romanova, A.R., Tikhonova, S.V., Pavlova, A.I. "Ispol'zovanie Allium cepa kak test-ob'ekta dlia otsenki kachestva rechnykh vod [Using Allium cepa as a test object for assessing the quality of river waters]." *Reports of Bashkir University* 1, no 4 (2016): 720–724.
- 19 Prokhorova, I.M., Kovaleva, M.I., and A.N., Fomicheva. *Geneticheskai toksikologiya: laboratornyi praktikum* [Genetic toxicology: laboratory practice]. Iaroslavl': IarGU, 2005.

20 Kolumbayeva, S.Zh., Lovinskaya, A.V., and A.M., Kalimagambetov. Tsitogeneticheskie metody v geneticheskom monitoringe [Cytogenetic methods in genetic monitoring]. Almaty: Kazak universiteti, 2018.

21 Patil, P., Sawant, D., Rn, D. "Physico-Chemical Parameters for Testing of Water—a Review." International Journal of Environmental Sciences 3, no 3 (2012): 1194–1207.

22 Krivolutskii, A.S., Kulagin, V.A. "Izmenenie okislitel'no-vozstanovitel'nogo potentsiala vody v rezul'tate kavitatsionnoi obrabotki." [Change in the redox potential of water as a result of cavitation treatment]. Bulletin of KrasGAU 2 (2007): 139–146.

23 Prozhorina, T.I. Ekologo-analiticheskie metody issledovaniia okruzhaiushchei sredy [Ecological and analytical methods of environmental research]. Voronezh: Istoki (2010).

24 Sanitarnye pravila «Sanitarno-epidemiologicheskie trebovaniia k vodoistochnikam, mestam vodozabora dlia khoziaistvenno-pit'evykh tselei, khoziaistvenno-pit'evomu vodosnabzheniiu i mestam kul'turno-bytovogo vodopol'zovaniia i bezopasnosti vodnykh ob'ektov RK» utverzhdenyi Ministrom ot 16.03.2015. [Sanitary rules "Sanitary and epidemiological requirements for water sources, places of water intake for household and drinking purposes, household and drinking water supply and places of cultural and domestic water use and safety of water bodies of the Republic of Kazakhstan" approved by the Minister dated 16.03.2015]. URL: [https://tengrinews.kz/zakon/pravitelstvo\\_respubliki\\_kazhstan\\_premier\\_ministr\\_rk/zdravoohranenie/id-V1500010774/](https://tengrinews.kz/zakon/pravitelstvo_respubliki_kazhstan_premier_ministr_rk/zdravoohranenie/id-V1500010774/) (In Russ.) ((accessed August 8 2020)

25 Semenova, I.N. "Otsenka fitotoksichnosti poverkhnostnykh vod r. Karagaily (Respublika Bashkortostan) [Assessment of phytotoxicity of surface waters of the river. Karagaily (Republic of Bashkortostan)]." Modern problems of science and education 3 (2015): 125.

26 Petriakova, O.D., Fominova, E.A. "Prichiny povysheniia kontsentratsii margantsa v prirodnoi i pit'evoi vode goroda Tol'iatti [Reasons for increasing the concentration of manganese in natural and drinking water of Togliatti]." Bulletin of the Volga University named after V.N. Tatishcheva 6 (2010): 3–7.

27 Dovgaliuk, A.I. "Otsenka fito- i tsitotoksicheskoi aktivnosti soedinenii tiazhelykh metallov i aliuminiia s pomoshch'iu kornevoi apikal'noi meristemy luka." [Evaluation of phyto- and cytotoxic activity of compounds of heavy metals and aluminum using the root apical meristem of onion]. Cytology and genetics 32, no 2 (2010): 3-10.

28 Mel'nichuk, Iu.P. Vliianie ionov kadmii na kletochnoe delenie i rost rastenii [Effect of cadmium ions on cell division and plant growth]. Kiev: Nauk. Dumka (1990).

29 Babkin V.V., Zavalin, A.A. "Fiziologo-biokhimicheskie aspekty deistviia tiazhelykh metallov na rasteniia." [Physiological and biochemical aspects of the action of heavy metals on plants]." Chemistry in agriculture 5 (1995): 17–21.

**Б.К. Калдыбаев<sup>1\*</sup>, К.Б. Ибраева<sup>1</sup>,  
Б.М. Дженбаев<sup>2</sup>, Б.Т. Жолболдиев<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Иссык-Кульский государственный университет, Кыргызстан, г. Каракол

<sup>2</sup>Институт биологии НАН КР, Кыргызстан, г. Бишкек,

\*e-mail: k\_bakyt@rambler.ru

## **РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ Г. КАРАКОЛ ИССЫК-КУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

Основным критерием Иссык-Кульской области является сбалансированное социально-экономическое развитие региона, соблюдение экологических норм в целях сохранения биоразнообразия, ландшафтов и природных экосистем. Город Каракол является административным и культурным центром Иссык-Кульской области, обеспечение радиоэкологической безопасности выступает обязательным условием качества окружающей среды для устойчивого развития в регионе. Цель работы – радиоэкологическая оценка окружающей среды г. Каракол. Мощность экспозиционной дозы радиационного фона была установлена методом пешеходной гамма-съемки, удельная активность радионуклидов в почве была определена гамма-спектрометрическим методом анализа. Для уровней поглощенных доз и оценки радиационных рисков использовано программное обеспечение Erica tool 1.3. По результатам исследований установлено, что уровень мощности экспозиционной дозы гамма-излучения не превышает допустимой нормы и варьирует в пределах 16 – 25 мкР/ч. Удельная активность радионуклидов в почве (<sup>238</sup>U, <sup>232</sup>Th, <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs) находится в пределах естественных значений, уровень поглощенной дозы и коэффициенты радиационных рисков не представляют опасности для живых организмов. Полученные результаты исследований существенно дополняют базы данных радиоэкологического мониторинга природно-техногенных экосистем Кыргызстана и представляют большую ценность для природоохранных структур региона.

**Ключевые слова:** радиационный фон, радионуклиды, почва, удельная активность

B.K. Kaldybaev<sup>1\*</sup>, K.B. Ibraeva<sup>1</sup>, B.M. Djenbaev<sup>2</sup>, B.T. Jolboldiev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Issyk-Kul State University, Kyrgyzstan, Karakol

<sup>2</sup>Institute Biology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Kyrgyzstan, Bishkek,

\*e-mail: k\_bakyt@rambler.ru

## **Radioecological research of the city Karakol of Issyk-Kul region**

The main criterion for the Issyk-Kul region is the balanced socio-economic development of the region, compliance with environmental standards in order to preserve biodiversity, landscapes and natural ecosystems. The city of Karakol is the administrative and cultural center of the Issyk-Kul region, ensuring radioecological safety is a prerequisite for the quality of the environment for the sustainable development of the region. The purpose of the work is a radioecological assessment of the environment of the city of Karakol. The exposure dose rate of the background radiation was determined by the method of pedestrian gamma-survey, the specific activity of radionuclides in the soil was determined by the gamma-spectrometric method of analysis. Erica tool 1.3 software was used for absorbed dose levels and assessment of radiation risks. According to the research results, it was found that the level of the exposure dose of gamma radiation does not exceed the permissible norm and varies in the range of 16–25  $\mu$ R / h. The specific activity of radionuclides in the soil (<sup>238</sup>U, <sup>232</sup>Th, <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs) is within natural values, the absorbed dose level and radiation hazard coefficients do not pose a threat to living organisms. The obtained research results significantly supplement the databases of radioecological monitoring of natural and technogenic ecosystems in Kyrgyzstan and are of great value for the nature protection structures of the region.

**Key words:** radiation background, radionuclide, soil, specific activities

Б.К. Калдыбаев<sup>1\*</sup>, К.Б. Ибраева<sup>1</sup>, Б.М. Дженбаев<sup>2</sup>, Б.Т. Жолболдиев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ыстықкөл мемлекеттік университеті, Қырғызстан, Каракөл қ.

<sup>2</sup>Қырғыз Республикасы Ұлттық Ғылым Академиясының Биология Институты, Қырғызстан, Бішкек қ.,  
\*e-mail: k\_bakyt@rambler.ru

### **Ыстықкөл облысының Каракөл қ. радиоэкологиялық зерттеу**

Ыстықкөл аймағының басты критерийі – бұл аймақтың әлеуметтік-экономикалық дамуы, биоалуантүрлілікті, ландшафттар мен табиғи экожүйелерді сақтау мақсатында экологиялық нормаларға сәйкестігі. Каракөл қаласы – Ыстықкөл облысының әкімшілік және мәдени орталығы, радиоэкологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету аймақтағы тұрақты даму үшін қоршаған орта сапасының маңызды шарты болып табылады. Жұмыстың мақсаты – Каракөл қаласының қоршаған ортасына радиоэкологиялық баға беру. Фондық сәулеленудің әсер ету дозасы жаяу жүргіншілер гаммасын зерттеу әдісімен анықталды, топырақтағы радионуклидтердің нақты белсенділігі гамма-спектрометриялық талдау әдісімен анықталды. Erica tool 1.3 бағдарламасы сіңірілген дозаның деңгейі мен радиациялық қауіпті бағалау үшін қолданылды. Зерттеу нәтижелері бойынша гамма-сәулеленудің әсер ету дозасының деңгейі рұқсат етілген нормадан аспайтыны және 16 – 25 мкР/сағ аралығында болатыны анықталды. Топырақтағы радионуклидтердің ерекше белсенділігі (<sup>238</sup>U, <sup>232</sup>Th, <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs) табиғи шамаларға сәйкес келеді, сіңірілетін дозаның деңгейі және радиациялық қауіптілік коэффициенттері тірі организмдерге қауіп төндірмейді. Алынған зерттеу нәтижелері Қырғызстандағы табиғи және техногендік экожүйелердің радиоэкологиялық мониторингінің мәліметтер базасын айтарлықтай толықтырады және аймақтың табиғатты қорғау құрылымдары үшін өте маңызды.

**Түйін сөздер:** радиациялық фон, радионуклидтер, топырақ, ерекше белсенділік

### **Введение**

Естественная радиоактивность является одним из факторов окружающей среды, которая в течение длительного периода времени воздействует на биосферу Земли. В отечественной и зарубежной литературе приводятся многочисленные исследования по действию естественной и искусственной радиации на живые организмы [1-8]. Ряд научных исследований последних лет показали, что, увеличение уровня радиационного фона является одним из негативных изменений современной биосферы, в том числе и человека [9-14]. В данной статье приведены результаты радиоэкологических исследований окружающей среды города Каракол. Город Каракол является административным, культурным и туристическим центром Иссык-Кульской области, обеспечение радиоэкологической безопасности выступает обязательным условием качества окружающей среды.

### **Материал и методы**

Измерение уровня радиационного фона на территории г. Каракол было проведено методом пешеходной гамма-съемки местности дозиметром ДКС-96 [15]. С использованием геоинформационной системы Golden Software Surfer 11 составлена карта-схема уровня экспозиционной дозы гамма-излучения на территории г. Каракол.

Согласно почвенного районирования Кыргызстана, территория г. Каракол представлена

горно-долинными светло-каштановыми и каштановыми почвами [16]. Для определения радионуклидного состава почв с 30 контрольных участков были отобраны пробы почв с горизонта (0-30 см) согласно ГОСТ 17.4.4.02-84 [17].

Определение радионуклидов в пробах почв проведено методом инструментальной гамма-спектрометрии на гамма-спектрометре “Canberra”, модель GX4019 с программным обеспечением Genie-2000 S 502, S501 RUS лаборатории биогеохимии и радиоэкологии института биологии НАН КР. Для оценки уровней поглощенных доз и коэффициентов радиационного риска для живых организмов использован пакет прикладных программ Erica tool 1.3.

### **Результаты и их обсуждение**

Мощность радиационного фона по гамма-излучению на территории г. Каракол варьирует в пределах 16 – 25 мкР/ч. Результаты исследования представлены в таблице 1.

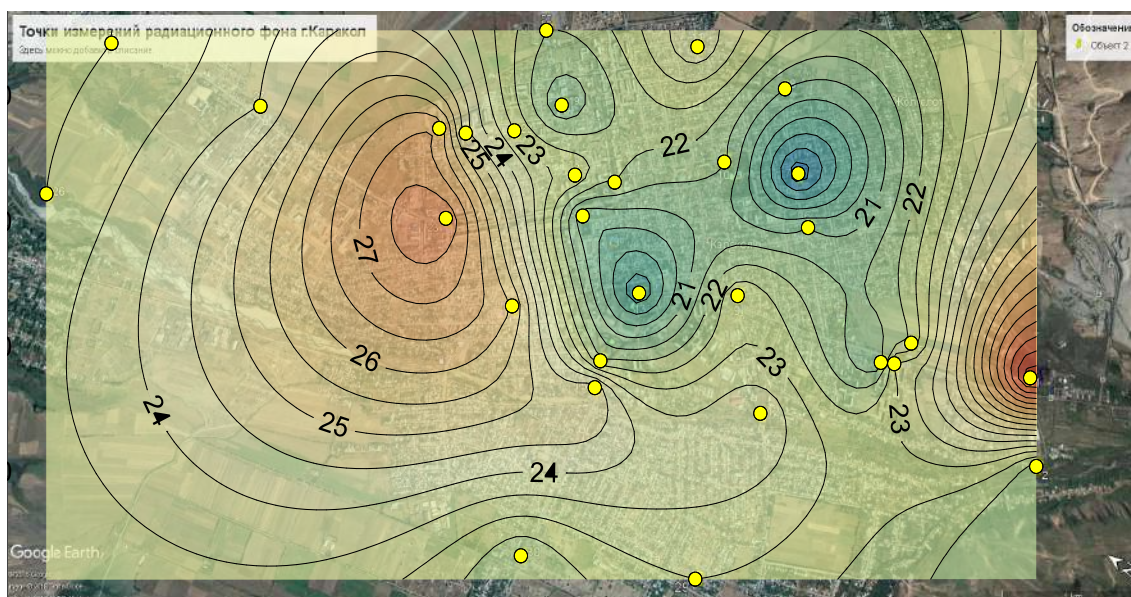
Результаты исследований показали, что наблюдаются незначительные вариации уровня экспозиционной дозы гамма-излучения, связанные с неоднородным распределением естественных радионуклидов в почвах г. Каракол. По 30 точкам измерения радиационного фона с использованием компьютерной программы Golden Software Surfer 11 составлена карта-схема мощности экспозиционной дозы гамма-излучения на территории г. Каракол (рис. 1).

Таблица 1 – Мощность уровня радиационного фона на территории г. Каракол

№	Место измерения	мкР/ч (max-min)	мкР/ч (M±m)
1	Тепловая электростанция	27-33	30±3
2	10 метров от реки Каракол	17-25	21,6±3.4
3	Верхняя зона микрорайона «Кашка-Суу»	20-26	23,3±2.7
4	Нижняя зона микрорайона «Кашка-Суу»	19-23	21±2
5	Городской ипподром	20-24	22±2
6	Пересечение ул. Жамансариева / Туркестанская	19-23	21±2
7	Пересечение ул. Алыбакова / Туркестанская	16-20	18±2
8	Район областной больницы	19-23	21±2
9	Пересечение ул. Масалиева / Карасаева	20-26	23±3
10	Городской парк «Победы»	20-23	21,6±1.4
11	Пересечение ул. Карасаева / Жакыпова	20-28	24±4
12	10 метров от реки Каракол (ул. Карасаева)	20-28	24±4
13	Городской парк им. А.С. Пушкина	17-21	19±2
14	Пересечение ул. Токтогула / Парковая	19-25	22±3
15	10 метров от реки Каракол (ул. Токтогула)	22-28	25±3
16	Пересечение ул. Жусаева / Токтогула (центр города)	19-21	20,6±1
17	Городской парк студентов	18-26	22±4
18	Пересечение ул. Токтогула / Гебзе	20-26	23±3
19	Пересечение ул. Токтогула / Туманова	19-23	21±2
20	Район аэропорта	20-24	22±2
21	Территория Каракольского базара	24-28	26±2
22	Пересечение ул. Кутманалиева / Алдашева	22-24	23±1
23	Пересечение ул. Абдрахманова / Пржевальского	26-30	28±2
24	Нижняя зона микрорайона «Восход»	25-26	24,6±1
25	Городской автовокзал	25-27	25±2
26	10 метров от реки Каракол (с. Бору-Баш)	20-26	23±3
27	ул. Кадыр-Аке	22-26	24±2
28	Выезд с города (север)	21-25	23±2
29	Пересечение ул. Исакова / Элебаева	20-26	23±3
30	Выезд с города (юг)	20-24	22±2

В жилых районах г. Каракол (микрорайоны «Кашка-Суу» и «Восход») в местах отдыха горожан (парк «Победы») были отобраны пробы почв для определения радионуклидного состава. Исследованиями В.В. Ковальского (1968) и учеными Кыргызстана установлено Иссык-Кульская котловина является естественной урановой биогеохимической провинцией, региональный фон урана в почвах повышен и варьирует в пре-

делах 0,00012 – 0,00064 % (14,9 – 79,6 Бк/кг) [1, 18, 19, 20]. Удельная активность  $^{238}\text{U}$  в почвах г. Каракол варьирует в пределах 39,8-70,8 Бк/кг, т.е. находится на уровне местного фона характерного для Иссык-Кульской области. Более высокие концентрации урана для горных светло-каштановых почв Каракольского природного парка 78 Бк/кг, вероятно связанные с особенностями горных пород местности (табл. 2).



**Рисунок 1** – Картограмма мощности экспозиционной дозы гамма-излучения на территории г. Каракол, с использованием программы Surfer 11 (мкР/ч)

**Таблица 2** – Содержание радионуклидов в почвах города Каракол

Место отбора	U/ <sup>234</sup> Th	<sup>232</sup> Th	<sup>40</sup> K	<sup>137</sup> Cs
	Удельная активность, Бк/кг (M±m, p<0.05)			
ГПП «Каракол»	78,1±4,9	57,1±5,2	606±6,3	7,6±0,2
Микрорайон «Кашка-Суу»	39,8±2,3	50,1±5,1	523±5,4	5,9±0,2
Парк «Победы ВОВ»	70,8±5,3	57,1±4,5	624±5,5	3,9±0,3
Микрорайон «Восход»	55,5±3,2	58,7±4,9	552±5,2	3,9±0,3

Компьютерные программы в настоящее время широко используются в радиоэкологическом мониторинге окружающей среды. Пакет прикладных программ Eгica tool 1.3 широко используется для радиоэкологической оценки состояния наземных и водных экосистем. Зная содержания радиоактивных элементов в почве или в воде, программа производит расчеты накопления радионуклидов живыми организмами, поглощённых доз облучения, оценку фактора радиационного риска. Элемент радиоэкологической оценки состоит из трех уровней, на первом уровне оценивается фактор радиационного риска, если его значение низкое, то можно ограничиться уровнем 1 (рис. 2). Если значение радиационного фактора повышено, то действие рекомендуется продолжить в уровне 2. Для оценки возможных радиобиологических эффектов в пределах расчетных доз облучения для живых организмов применяется уровень 3.

Для расчета фактора радиационного риска программой Eгica tool 1.3 нами были введены данные удельной активности урана в почвах г. Каракол. Если расчетное значение коэффициента риска выше 1, то существует вероятность накопления радионуклидов живыми организмами. Фактор риска (RQ) был определен по следующей формуле:

$$RQ_n = \frac{Mn}{EMCL}$$

где, RQ<sub>n</sub> = Фактор риска для радионуклида «n»;

M<sub>n</sub> = измеренная концентрация активности для радионуклида «n» в среде, Бк кг<sup>-1</sup> для почвы;

EMCL<sub>n</sub> = Предельно допустимая концентрация для радионуклидов «n» (в базе данных программы Eгica)



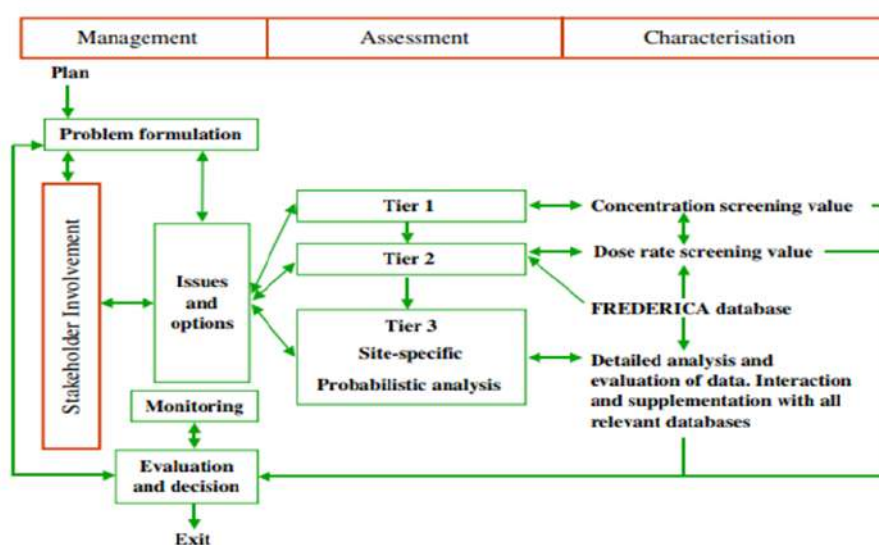


Рисунок 2 – Алгоритм программы Erica tool 1.2

Полученные расчетные значения фактора радиационного риска для разных участков г. Каракол ниже 1, т.е. нет радиационной опасности, по-

глощенные дозы облучения живых организмов варьируют в пределах естественных уровней (рис 3, табл. 3).

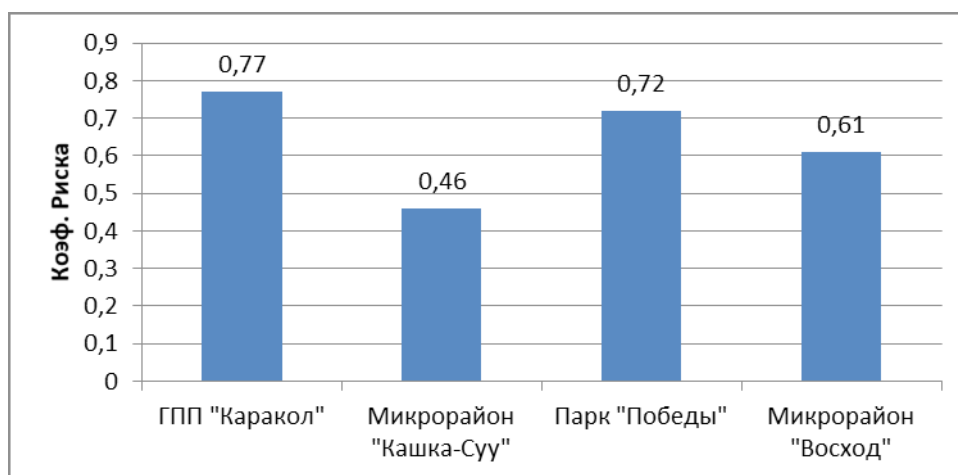


Рисунок 3 – Значения коэффициентов радиационного риска для г. Каракол

Таблица 3 – Расчетная поглощенная доза облучения на организм

Эталонные организмы	Поглощенная доза на организм (мкГр/ч)
Амфибии	0,013
Кольчатый червь	0,078
Членистоногие	0,029
Птицы	0,004
Летающие насекомые	0,027
Травы	0,452

Эталонные организмы	Поглощенная доза на организм (мкГр/ч)
Мхи и лишайники	2,221
Млекопитающие (большие)	0,019
Млекопитающие (мелкие)	0,016
Брюхоногие моллюски	0,076
Рептилии	0,014
Кустарники	0,197
Деревья	0,015

Наиболее высокие показатели поглощённой дозы характерны для мхов и лишайников (2 мкГр/ч), это еще раз подтверждает, что данные организмы можно использовать как тест-объекты для оценки накопления радионуклидов в окружающей среде. Согласно выводов научного комитета ООН по действию атомной радиации мощность поглощенной дозы в 80 мкГр/ч не способна оказать статистически значимого отрицательного влияния на живые организмы. Представленные поглощенные дозы для эталонных организмов в таблице 3 на много ниже порогового уровня (80 мкГр/ч).

### Заключение

Результаты радиозоологических исследований показали, что мощность экспозиционной дозы гамма-излучения радиационного фона на территории города Каракол варьирует в пределах естественных значений (16 – 25 мкР/ч) характерных для Иссык-Кульской области. Так как Иссык-Кульская котловина является естественной урановой биогеохимической провинцией, региональный фон урана повышен и варьирует в пределах 0,00012 – 0,00064 % (14,9 – 79,6 Бк/кг). Удельная активность  $^{238}\text{U}$  в почвах г. Каракол

варьирует в пределах 39,8-70,8 Бк/кг, т.е. находится на уровне местного фона характерного для региона. Поглощенные дозы облучения живых организмов варьируют в пределах 0,004 – 2,221 мкГр/ч, что на много ниже порогового уровня действия радиоактивного излучения (80 мкГр/ч) способного оказать отрицательное на живые организмы.

### Благодарности

Выражаю благодарность коллективу лаборатории биогеохимии и радиозоологии института биологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, прежде всего заведующему лабораторией д.б.н., профессору Дженбаеву Б.М. за предоставленное оборудование и научно-методические консультации, к.б.н., старшему научному сотруднику Жолболдиеву Б.Т. за выполнение аналитической части работы.

### Источник финансирования

Научные исследования были проведены в рамках научного проекта министерства образования и науки КР на 2020 год «Экологические аспекты устойчивого развития города Каракол».

### Литература

- 1 Ковальский В.В., Воротницкая И.Е., Лекарев В.С. и др. Урановые биогеохимические пищевые цепи в условиях Иссык-Кульской котловины // Тр. Биогеохим. лаб. – М.: Наука, 1968. – Т. XII. – С.25-53.
- 2 Алексахин Р. М., Архипов Н. П., Бархударов Г. В. и др. Тяжелые естественные радионуклиды в биосфере. – М.: Наука, 1990. – 350 с.
- 3 Akleyev A.V., Krestinina L.Yu., Degteva M.O. Tolstykh E.I. Consequences of the radiation accident at the Mayak production association in 1957 (the 'Kyshtym Accident') // Journal of Radiological Protection. – 2017. – Vol. 37, no 3. – P. 19-42.
- 4 Mohanty A.K., Sengupta D., Das S.K., et al. Natural radioactivity in the newly discovered high background radiation area on the eastern coast of Orissa, India // Radiation measurements. – 2004. – Vol.38, no 2. – P.153-165.
- 5 Miah M.I. Environmental gamma dose rate and influencing factors in buildings // Building and environment. – 2004. – Vol.39. no 7. – P. 847-850.

- 6 Vasilenko E.K., Aladova E.E., Romanov S.A., at all. The radiological environment at the Mayak site and radiation doses to individuals involved in emergency and remediation operation after the “Kyshtym accident” in 1957 // *Journal of radiological protection*. – 2020. – Vol. 40, no2. – P. 23-45.
- 7 Kasar S., Sahoo S.K., Arae H., at all., Thorium and rare earth elements distribution in Fukushima soil samples // *Radiation protection dosimetry*, vol. 184, no3-4, (2019), pp. 363-367.
- 8 Starke K., Gomez-Rosc J.M., Vives i Batlle J., at all. Dose assessment in environmental radiological protection: state of the art and perspectives // *Journal of Environmental Radioactivity*. – 2017. – Vol. 175–176. – P. 105-114.
- 9 Cannon H. L. The effect of uranium-vanadium deposits on the vegetation of the Colorado Plateau // *American Journal of Science*. – 1952. – Vol. 250, no 10. – P. 735-770.
- 10 Leonard A., Deplont G., Leonard D. Natural radioactivity in Southwest France and its possible genetic consequences for mammals // *Radiation Research*. – 1967. – Vol. 77, no 1. – P. 170-181.
- 11 Aramrun P., Beresford N.A., Wood M.D. Selecting passive dosimetry technologies for measuring the external dose of terrestrial wildlife // *Journal of Environmental Radioactivity*. – 2018. – Vol. 182. – P. 128-137.
- 12 Beresford N.A., Gaschak S., Barnett C.L., at all. Estimating the exposure of small mammals at three sites within the Chernobyl exclusion zone – a test application of the ERICA tool // *Journal of Environmental Radioactivity*. – 2008. – Vol. 99, no 9. – P. 1496-1502.
- 13 Rogers J.F., Killough G.G. Historical dose reconstruction project: estimating the population at risk // *Health Phys.* – 1997. – Vol. 72, no 2. – P. 186-194.
- 14 Vives i Batlle J., Balonov M., Beaugelin-Seiller K., at all. Inter-comparison of absorbed dose rates for non-uman biota // *Radiat. Environ. Biophys.* – 2007. – Vol.46. – P. 349-373.
- 15 Инструкция по измерению гамма-фона в городах и населённых пунктах (пешеходным методом). – М., Министерство здравоохранения СССР, 1985. – 5 с.
- 16 Мамытов, А.М., Мамытова Г.М. Почвы Иссык-Кульской котловины и прилегающей к ней территории. – Ф.: Илим, 1988. – 191 с.
- 17 ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. – М.: «Изд-во стандартов», 1985. – 14 с.
- 18 Дженбаев Б.М., Жолболдиев Б.Т., Калдыбаев Б.К. Современное состояние Иссык-Кульской урановой радиобиогеохимической провинции // *Радиационная биология. Радиоэкология*. – 2013. – Т.53, № 4. – С.432-440.
- 19 Djenbaev B.M., Shamshiev A.B., Jolboldiev B.T. et al. The biogeochemistry of uranium in natural-technogenic provinces of Issik-Kul // *Uranium, Mining and Hydrogeology*. – 2008. – P.673-681.
- 20 Djenbaev B., Kaldybaev B., Toktoeva T., at all // *Radiobiogeochemical Assessment of the Soil Near the Issyk-Kul Region. Journal of Geological Resource and Engineering*. – 2016. – Vol. 4, no 1. – P.39-44.

## References

- 1 Koval'skiy, V.V., Vorotnitskaya, I.Ye., Lekarev, V.S. et al. “Uranovyye biogekhimicheskiye pishchevyye tsepi v usloviyakh Issyk-Kul'skoy kotloviny” [Uranium biogeochemical food chains in the Issyk-Kul basin]. *Proceedings of the Biogeochemical Laboratory*. 12 (1968): 25-53.
- 2 Aleksakhin, R. M., Arkhipov, N. P., Barkhudarov, G. V. et al. “Tyazhelye yestestvennyye radionuklidy v biosphere” [Heavy natural radionuclides in the biosphere]. *Monograph. M.:Nauka*, 1990.
- 3 Akleyev, A.V., Krestinina, L.Yu., Degteva, M.O. Tolstykh, E.I. “Consequences of the radiation accident at the Mayak production association in 1957 (the “Kyshtym Accident”).” *Journal of Radiological Protection* 37, no 3. (2017): 19-42.
- 4 Mohanty, A.K., Sengupta, D., Das, S.K., et al. “Natural radioactivity in the newly discovered high background radiation area on the eastern coast of Orissa, India.” *Radiation measurements* 38, no 2, (2004): 153-165.
- 5 Miah, M.I. “Environmental gamma dose rate and influencing factors in buildings.” *Building and environment* 39. no 7, (2004): 847-850.
- 6 Vasilenko, E.K., Aladova, E.E., Romanov, S.A., et al. “The radiological environment at the Mayak site and radiation doses to individuals involved in emergency and remediation operation after the “Kyshtym accident” in 1957.” *Journal of radiological protection* 40, no2, (2020): 23-45.
- 7 Kasar, S., Sahoo, S.K., Arae, H., et al., “Thorium and rare earth elements distribution in Fukushima soil samples.” *Radiation protection dosimetry* 184, no3-4, (2019): 363-367.
- 8 Starke, K., Gomez-Rosc, J.M., Vives i Batlle, J., et al. “Dose assessment in environmental radiological protection: state of the art and perspectives.” *Journal of Environmental Radioactivity* 175–176, (2017): 105-114.
- 9 Cannon, H. L. “The effect of uranium-vanadium deposits on the vegetation of the Colorado Plateau.” *American Journal of Science* 250, no 10 (1952): 735-770.
- 10 Leonard, A., Deplont, G., Leonard, D. “Natural radioactivity in Southwest France and its possible genetic consequences for mammals.” *Radiation Research* 77, no 1, (1967): 170-181.
- 11 Aramrun, P., Beresford, N.A., Wood, M.D. “Selecting passive dosimetry technologies for measuring the external dose of terrestrial wildlife.” *Journal of Environmental Radioactivity* 182, (2018): 128-137.
- 12 Beresford, N.A., Gaschak, S., Barnett, C.L., et al. “Estimating the exposure of small mammals at three sites within the Chernobyl exclusion zone – a test application of the ERICA tool.” *Journal of Environmental Radioactivity* 99, no 9, (2008): 1496-1502.

- 13 Rogers, J.F., Killough, G.G. "Historical dose reconstruction project: estimating the population at risk." *Health Phys.* 72, no 2, (1997):186-194.
- 14 Vives i Battle, J., Balonov, M., Beaugelin-Seiller, K., et al. "Inter-comparison of absorbed dose rates for non-human biota." *Radiat. Environ. Biophys.* 46, (2007): 349-373.
- 15 Instruktsiya po izmereniyu gamma-fona v gorodakh i naselennykh punktakh (peshekhodnym metodom). [Instructions for measuring gamma background in cities and towns (pedestrian method)]. Instructions. M.: USSR Ministry of Health, 1985.
- 16 Mamytov, A.M., Mamytova, G.M. "Pochvy Issyk-Kul'skoy kotloviny i prilgayushchey k ney territorii" [Soils of the Issyk-Kul depression and the adjacent territory]. Monograph. F.: Ilim, 1988.
- 17 GOST 17.4.4.02-84. "Okhrana prirody. Pochvy. Metody otbora i podgotovki prob dlya khimicheskogo, bakteriologicheskogo, gel'mintologicheskogo analiza" [Protection of Nature. Soils. Methods for sampling and preparation of samples for chemical, bacteriological, helminthological analysis]. Standard. M.: «Izd-vo standartov», 1985.
- 18 Dzenbayev, B.M., Zholboldiyev, B.T., Kaldybayev, B.K. "Sovremennoye sostoyaniye Issyk-Kul'skoy uranovoy radiobiogeokhimicheskoy provintsii" [The current state of the Issyk-Kul uranium radiobiogeochemical province]. *Radiation biology. Radioecology* 53, no 4 (2013): 432-440.
- 19 Djenbaev, B.M., Shamshiev, A.B., Jolboldiev, B.T. et al. "The biogeochemistry of uranium in natural-technogenic provinces of Issik-Kul." *Uranium, Mining and Hydrogeology*, (2008): 673-681.
- 20 Djenbaev, B., Kaldybaev, B., Toktoeva, T., at all. "Radiobiogeochemical Assessment of the Soil Near the Issyk-Kul Region." *Journal of Geological Resource and Engineering* 4, no 1, (2016): 39-44.

**Г.Ж. Кенжетаев, С. Сырлыбеккызы\*,  
Ш.Х. Баймукашева**

Каспийский государственный университет технологии и  
инжиниринга им. Ш. Есенова, Казахстан, г. Актау,  
\*e-mail: Samal\_86a@mail.ru

## **ОЦЕНКА СУММАРНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОТСТОЙНИКА СТОЧНЫХ ВОД В РАЙОНЕ ГОРОДА ЖАНАОЗЕН**

В статье приведены результаты степени загрязнения отстойника, рассчитан гидрохимический индекс загрязнения. В городе нефтяников Жанаозен недостаточно очищенные сточные воды (СВ) городских канализационных очистных сооружений, они сбрасываются в отстойник, представляющий собою частично обвалованную земляную емкость. В отстойнике постоянно содержатся сточные воды различной степени загрязнения, которые находятся в нем до определенного «критического» времени. Особая роль отстойника СВ в том, что, находясь в черте города, практически «техногенный» объект, представляет из себя источник создания «критической» экологической и санитарно-эпидемиологической ситуации для населения. Пробы воды и донных отложений анализировались на содержание тяжелых металлов (Cu, Cd, Zn, Cr<sup>3+</sup>). Проведен расчет суммарного показателя загрязнения для определения валового содержания тяжелых металлов Cr, Cu, Fe, Zn и металлоида As, в донных отложениях. Для получения объективной оценки степени загрязнения донных отложений тяжелыми металлами использовано несколько показателей суммарного загрязнения Z<sub>c</sub>. В прудах-отстойниках (буферные пруды) концентрации загрязняющих веществ во взвешенных веществах и в верхних слоях донных отложений намного выше, чем концентрации веществ, растворенных в водной толще. Результаты оценки расчета суммарного загрязнения отстойника, находящегося практически в черте г. Жанаозен, который превращает его в опасный объект, позволяют разработать наиболее экономически целесообразный и экологически чистый способ по очистке воды.

**Ключевые слова:** отстойник, донные отложения, сточные воды, тяжелые металлы.

G. Zh. Kenzhetayev, S. Syrlybekkyzy\*, Sh.Kh. Baimukasheva

Sh. Yessenov Caspian state University of technology and engineering, Kazakhstan, Aktau,  
\*e-mail: Samal\_86a@mail.ru

### **Estimation of total contamination of the clarifier of waste water in the town of Zhanaozen**

The article presents the results of the degree of contamination of the settling tank and calculates the hydrochemical index of contamination. In the city of oil workers Zhanaozen insufficiently treated waste water (WW) from municipal sewage treatment plants is discharged into a sump, which is a partially collapsed earthen container. The sump constantly contains waste water of various degrees of contamination, which are in it until a certain "critical" time. The special role of the sump is WW, being located within the city limits, it is almost a "man-made" object, which is a source of creating a "critical" environmental and sanitary-epidemiological situation for the population. Water and sediment samples were analyzed for heavy metals (Cu, Cd, Zn, Cr<sup>3+</sup>). The total pollution index was calculated to determine the gross content of heavy metals Cr, Cu, Fe, Zn and metalloid As in bottom sediments. To obtain an objective assessment of the degree of contamination of bottom sediments with heavy metals, several indicators of total Z<sub>c</sub> pollution were used. In settling ponds (buffer ponds), the concentrations of pollutants in suspended solids and in the upper layers of sediments are much higher than the concentrations of substances dissolved in the water column. The results of the assessment of the calculation of the total pollution of the settling tank located almost within the city of Zhanaozen, which turns it into a dangerous object, allow us to develop the most economically feasible and environmentally friendly method for water purification.

**Key word:** Sedimentation tank, bottom sediments, waste water, heavy metals.

Г.Ж. Кенжетаев, С. Сырлыбекқызы\*, Ш.Х. Баймукашева  
Ш. Есенов атындағы Каспий мемлекеттік технологиялар және  
инжиниринг университеті, Қазақстан, Ақтау қ.,  
\*e-mail: Samal\_86a@mail.ru

### Жаңаөзен қаласы аймағындағы сарқынды су тұндырғышының жиынтық ластануын бағалау

Мақалада тұндырғыштың ластану дәрежесінің нәтижелері келтірілген, ластанудың гидрохимиялық индексі есептелген. Жаңаөзен мұнайшылар қаласында қалалық кәріздік тазарту құрылыстарының жеткіліксіз тазартылған ағызынды сулары (АС) ішінара топырақ үйілген жер сыйымдылығын білдіретін тұндырғышқа ағызылады. Тұндырғышта үнемі әр түрлі ластану деңгейіндегі ағынды сулар бар, олар белгілі бір “сыни” уақытқа дейін болады. Ағызынды су тұндырғышының рөлі ерекше, қала шегінде бола отырып, іс жүзінде “техногендік” объект халық үшін “сыни” экологиялық және санитарлық-эпидемиологиялық жағдайды құру кезі болып табылады. Су мен төменгі шөгінділердің сынамалары ауыр металдардың құрамына (Cu, Cd, Zn, Cr<sup>3+</sup>) талданды. Төменгі шөгінділердегі Cr, Cu, Fe, Zn және As металлоидтарының жалпы құрамын анықтау үшін ластанудың жалпы көрсеткіші есептелді. Төменгі шөгінділердің ауыр металдармен ластану дәрежесін объективті бағалау үшін Z<sub>c</sub> жалпы ластануының бірнеше көрсеткіштері қолданылды. Тұндырғыш тоғандарда (буферлік тоғандар), ластаушы заттар концентрациясы, өлшенген заттар мен төменгі шөгінділердің жоғарғы қабаттарында су бағанында еріген заттардың концентрациясынан әлдеқайда жоғары. Жаңаөзен қаласының шегінде орналасқан, оны қауіпті объектіге айналдыратын тұндырғыштың жиынтық ластануының есебін бағалау нәтижелері суды тазартудың экономикалық тұрғыдан тиімді және экологиялық таза тәсілін әзірлеуге мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** тұндырғыш, түптік шөгінділер, ағынды сулар, ауыр металдар.

## Введение

В настоящее время для города нефтяников Жанаозен первостепенна проблема поиска альтернативных источников водообеспечения, решения вопроса нехватки воды даже на полив насаждений, не говоря о нуждах орошаемого земледелия. Экологически чистый путь для решения этой проблемы – использование солнечной энергии в условиях жаркого и сухого климата. Для выбора наиболее экологически и экономически выгодного способа очистки сточных вод необходима оценка степени и характера загрязнения отстойника СВ. Это достигается за счет исследования и расчетов суммарного загрязнения вод. Исторически сложилось так, что оценка содержания загрязняющих веществ (ЗВ) в водных объектах производилась на основании анализов воды [1]. Но в прудах-отстойниках (буферные пруды) концентрации ЗВ во взвешенных веществах и в верхних слоях донных отложений (ДО) намного выше, чем концентрации веществ, растворенных в водной толще. Это обуславливает их исследование для определения путей потенциальной геохимической миграции [2]. Актуальной и своевременной является геохимическая оценка загрязнения воды и донных отложений отстойника СВ КОС, позволяющая выполнить анализ особой ситуации в районе отстойника и разработать методы использования

этих вод для поверхностного полива городских насаждений. Цель работы – анализ суммарного загрязнения почв ТМ для изучения химического состава и уровня техногенности отстойника сточных вод.

## Материалы и методы исследования

Материалы, положенные в основу работы, получены во время полевых исследований в весенний и летний периоды 2019 г. Пробы воды и донных отложений отбирались в одних и тех же точках. Точки отбора проб были выбраны с учетом повторяемости ветра по направлениям света. Определение содержания нефтепродуктов проводили по аттестованной методике экстракционно-фотометрическим методом на анализаторе содержания нефтепродуктов «АН-2» (Методика измерений, 2011). Пробы воды и донных отложений анализировались на содержание тяжелых металлов (Cu, Cd, Zn, Cr<sup>3+</sup>) в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.36-2002 «Методика измерений валового содержания кадмия, меди, хрома и цинка в почвах, донных отложениях, осадках сточных вод и отходах», и металлоида As по ПНД Ф 16.1:2.2:3.17-98 (изд. 2004 г.) «Методика выполнения измерения массовой доли (валового содержания) мышьяка, на атомно-абсорбционном спектрометре МГА-915М (Люмекс, Россия), с плазменной атомизацией в аккредитованной

лаборатории управления природных ресурсов и рационального природопользования (УПРиПП) Мангистауской области, согласно методике (М-МВИ-80-80-2008) [3]. Погрешность составила 20-30%. Образцы донных отложений предварительно высушивали до воздушно-сухого состояния, затем удаляли механические включения. Проведен расчет суммарного показателя загрязнения для определения валового содержания тяжелых металлов Cr, Cu, Fe, Zn и металлоида As, в донных отложениях [4].

### Результаты исследований и их обсуждение

Исследование и изучение гидрохимических показателей отстойника сточных вод (СВ) канализационных очистных сооружений (КОС) г. Жанаозен в весенний и летний периоды позволяет оценить ее состояние в настоящее время. Необходимо отметить, что при выборе точек отбора проб воды в отстойнике нами выбран подход учета повторяемости ветра по сторонам света, что оказывает немаловажное влияние на сток воды в сторону большей повторяемости ветра (нагон воды) и накоплению загрязняющих веществ (ЗВ) в точках с наименьшей. Мангистауской области присущи ветры с высокой скоростью и большей повторяемостью господствующего ветра, в основном восточных и юго-восточных направлений. Такой подход, а также сравнение гидрохимических показателей по временам года, техногенного отстойника в полной мере позволит получить необходимое представление о степени его загрязнения с точностью до региональных гидрохимических особенностей сухого и жаркого климата с сильными ветрами [5].

В связи с этим фоновая точка 1 (ЮЗ) на юго-западе отстойника выбрана с наименьшей повторяемостью ветра 6% и расположенная от точки 1 сброса сточной воды в отстойник на расстоянии порядка 1500 м. Самая наибольшая повторяемость ветра в восточном направлении 23% (точка 4), в районе сброса сточной воды и наименьшая на юго-западе отстойника 6% (фоновая точка 1). В точках 2 (запад) и точке 3 (север) повторяемость ветра 10% и 14% соответственно. По результатам изучения весной и летом 2019 г. установлено, что вода в отстойнике имеет в основном слабощелочную реакцию в фоновой точке 1 (ЮЗ), точке 3 (С) и 4 (В), и только в точке 2(З) в западной части отстойника вода щелочная – рН 8,9 весной. В целом наблюдается незначительное снижение величины рН в летнее время,

что связано с выпадением в то время осадков в виде дождя (июнь и июль 2019 г.).

Высокое содержание показателя ХПК, в частности содержание органики, даже в фоновой точке 1, весной 49 мг/дм<sup>3</sup> с увеличением ХПК летом до 53 мг/дм<sup>3</sup> объясняется смывом ЗВ с сильно замусоренных берегов отстойника и прилегающей территории. Наибольший показатель ХПК зафиксирован в точке 2 на западе отстойника, превышающий ПДК в более, чем в 2 раза (весной 63 мг/дм<sup>3</sup> и 71 мг/дм<sup>3</sup> летом), связанный с тем, что в этом районе расположен временный полигон ТБО.

Сухой остаток (СО) – общая загрязненность СВ по результатам выпаривания, высушивания и прокаливания, то есть соотношение органической и минеральной частей в сухом остатке. СО по результатам анализа проб воды ни в одной из точек не превышает показатель ПДК. Это объясняется тем, что почвы на глубине порядка 1,5-2,0 метра сложены из известняковых пород, через которые происходит просачивание не только загрязненных СВ, но и осадков.

Перманганатная окисляемость (ПО) не только характеризует содержание в воде легко окисляемых органических веществ, но и позволяет судить о степени органического загрязнения. Для водоемов, не подверженных значительному загрязнению, этот показатель составляет величину в пределах 5-12 мг О<sub>3</sub>/дм<sup>3</sup>. В сторону точки 2 на западе отстойника, куда в основном с восточной стороны, с места выпуска СВ из КОС, в результате повторяемости ветра (24%) и потока водовыпуска в точке 4 направлен основной нагон воды. Поэтому в этой точке ПО составила весной 8,3 мг О<sub>3</sub>/дм<sup>3</sup> со снижением до 6,4 мг О<sub>3</sub>/дм<sup>3</sup> летом, что позволяет судить об антропогенном воздействии в этом районе. В фоновой точке 1 (ЮЗ) и северной точке 3, где отстойник имеет незначительные уклоны, показатели ПО относительно низкие.

Наибольшее превышение ПДК содержания в воде отстойника хлорид-ионов, зафиксировано в точке 4, в районе сброса СВ из КОС, 596 мг/дм<sup>3</sup> весной и 618 мг/дм<sup>3</sup> в летнее время, с превышением ПДК в 1,7 и 1,8 раза соответственно. Незначительные превышения наблюдаются в точках 2 и 3, 1,26 ПДК и 1,32 ПДК соответственно. В фоновой точке содержание хлоридов менее величины ПДК. Высокое содержание хлоридов в отстойнике в точке 4 (водовыпуск КОС) (1,62 ПДК весной и 1,76 ПДК летом) объясняется сбросом в систему очистных сооружений концентрированной технической воды с высоким содержанием



солей и регенерационного раствора поваренной соли с участков химводоподготовки котельных.

Количество сульфатов в отстойнике незначительное, во всех точках отбора проб воды, за исключением участка отстойника в точке 4, куда впадают практически неочищенные сточные воды канализации. Так, в точке 4 (водовыпуск КОС) зафиксировано увеличение превышения сульфатов до 1,41 ПДК весной и до 1,52 ПДК в летнее время.

Содержание фосфат-ионов в отстойнике также незначительное, без превышения ПДК. Только в точке 4 (водовыпуск КОС) содержание фосфат-ионов близко к ПДК, 0,88 ПДК весной и 0,91 ПДК летом.

Основной источник поступления аммонийного азота – сброс воды из очистных сооружений. Так, превышение над ПДК аммонийного азота в точке 4 (водовыпуск КОС) весной составил 3,2 ПДК и 4,1 ПДК в летнее время. Увеличение концентрации этого ЗВ – результат свежего загрязнения. На фоновой точке 1 и северной точке 3 превышения ПДК нет. В точке 2 (запад), напротив водовыпуска КОС, концентрация аммонийного азота в воде отстойника изменялась незначительно, с превышением ПДК от 1,1 ПДК весной до 1,3 ПДК летом.

Анализ воды на содержание железа проведен по показателю «Железо общее». Превышения ПДК по железу общему зафиксировано во всех точках отбора. Наибольшая концентрация железа  $Fe_{\text{общ}}$  в воде отстойника в северной точке 3 – 4,33 ПДК весной и 3,0 ПДК в летнее время, и в точке 2, 3,66 ПДК весной и 2,33 ПДК летом связана со смывом ЗВ с прилегающей очень замусоренной территории, на которой расположены цеха подготовки металлических изделий. Вместе с тем, снижение концентрации железа в летнее время связано с щелочной средой воды отстойника. Так, на фоновой точке 1 летом концентрация  $Fe_{\text{общий}}$  уменьшилась от 1,66 до 0,66 ПДК.

По содержанию меди превышение ПДК в точке 4 (водовыпуск КОС) в 2,6 ПДК летом и 2,8 ПДК весной объясняется возможностью поступления меди со стоками КОС. В точке 3 – 2,8 ПДК весной и 4,0 ПДК летом. Для точки 2 – 3,4 ПДК весной 4,2 в летнее время. Возрастание концентрации Си в этих точках в летний период года связано с наличием полигона ТБО в западной части отстойника в нескольких метрах от точки 2. В фоновой точке 1 превышения ПДК нет.

Концентрация мышьяка, превышающая ПДК, отмечена в точке 3 (6,0 ПДК весной и 7,0 ПДК летом) на севере отстойника. Это объясняется сливом в отстойник стоков промышленных предприятий, а также вероятностью вымывания мышьяка из почв береговых участков близ этой точки. Это предположение обосновано тем, что в точках 1, 2 и 4 содержание As меньше величины ПДК. Даже, при том, что превышение ПДК по мышьяку зафиксировано только в точке 3, тем не менее, в содержании As в воде прослеживается высокая корреляционная связь ( $r=0,8$ ), статистически значимая с вероятностью 0,98.

Содержание кадмия во всех точках пробоотбора воды из отстойника СВ КОС ниже предельной величины, за исключением 3 точки, в которой очень высокое превышение ПДК (весной 30 ПДК, летом 37 ПДК). Это скорее всего результат попадания в воду стоков от множества банок изпод краски, которые свалены в этом районе, и других стоков.

Прослеживается высокая положительная корреляционная связь ( $r = 0,73$ ) содержания кадмия Cd в воде отстойника, статистически значимая с вероятностью 0,93.

Превышение цинком ПДК в воде отстойника зафиксировано во всех точках, кроме фоновой точки 1. Так, в точке 2 превышение составило 1,5 ПДК весной и 1,7 ПДК летом, для точки 3 – весной 1,8 ПДК и 2,1 ПДК в летнее время, а также 1,1 ПДК и 1,2 ПДК для точки 4, весной и летом соответственно. Известно, что цинк попадает со стоками промышленных предприятий, а также вымывается из коммуникационных труб. Это дает основание утверждать, что сточные воды очистных сооружений являются источником загрязнения отстойника Zn. Концентрация хрома в воде ниже ПДК.

Что касается нефтепродуктов (НП), превышение ПДК в воде отстойника отмечается только в северной точке 3 в пределах 3,0 ПДК весной и 5,0 ПДК летом. Причина этого в несанкционированном сливе жидких отходов нефтепродуктов промышленных предприятий автохозяйств и автозаправок. В других точках концентрация НП ниже показателя ПДК. Динамика содержания загрязняющих веществ в воде отстойника показана на рисунке 1. Результаты анализов концентрации ЗВ в отстойнике и данные, представленные в виде (mean±sd) median (range) – среднего стандартного отклонения, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание загрязняющих веществ в отстойнике СВ КОС, мг/дм<sup>3</sup>

Показатель ЗВ в отстойнике СВ	ПДК*	№ точки отбора проб воды							
		Фон 1 (ЮЗ)**		2 (З)**		3 (С)**		4 (В)**	
		2019 г.		2019 г.		2019 г.		2019 г.	
		Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
Mean±SD									
рН	6,5-8,5	7,8±0,06	7,7±0,04	8,9±0,05	8,6±0,07	8,5±0,04	8,3±0,07	7,7±0,03	7,5±0,0,05
ХПК, мгО <sub>2</sub> /дм <sup>3</sup>	30	49±0,03	53±0,07	63±0,03	71±0,05	57±0,04	59±0,06	44±0,06	47±0,03
Сухой остаток	< 1000	703±0,04	671±0,05	862±0,04	797±0,04	619±0,06	639±0,03	882±0,06	853±0,04
Пермангантная окисляемость	7,0	1,3±0,05	0,8±0,04	8,3±0,05	6,4±0,03	3,3±0,04	2,9±0,05	2,7±0,04	2,4±0,07
Хлорид ионы, мг/дм <sup>3</sup>	350	239±0,04	247±0,04	441±0,03	457±0,05	396±0,05	405±0,03	596±0,04	618±0,06
Сульфат ионы, мг/дм <sup>3</sup>	500	173±0,03	191±0,04	289±0,03	279±0,04	283±0,03	281±0,04	703±0,02	761±0,04
Фосфат ионы, мг/дм <sup>3</sup>	3,5	2,7±0,05	2,3±0,04	3,1±0,04	2,9±0,03	2,6±0,03	2,7±0,05	3,1±0,04	3,3±0,05
Азот аммонийный	1,5	0,9±0,03	1,2±0,03	1,7±0,05	1,9±0,04	1,3±0,04	1,1±0,03	4,9±0,04	6,1±0,03
Fe общий, мг/дм <sup>3</sup>	0,3	0,5±0,03	0,2±0,04	1,1±0,04	0,7±0,05	1,3±0,03	0,9±0,04	0,7±0,05	0,4±0,04
Cu, мг/дм <sup>3</sup>	0,05	0,001±0,03	0,001±0,03	0,17±0,1	0,21±0,04	0,14±0,03	0,2±0,04	0,13±0,1	0,14±0,04
As, мг/дм <sup>3</sup>	0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,6±0,04	0,7±0,03	< 0,1	< 0,1
Cd, мг/дм <sup>3</sup>	0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,03±0,92	0,04±0,1	< 0,001	< 0,001
Zn, мг/дм <sup>3</sup>	1,0	0,9±0,04	0,7±0,03	1,5±0,02	1,7±0,04	1,8±0,03	2,1±0,04	1,1±0,03	1,2±0,04
Сг общий, мг/дм <sup>3</sup>	0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Нефтепродукты	0,1	0,08±0,04	0,09±0,03	0,08±0,1	0,09±0,04	0,3±0,03	0,5±0,02	0,05±0,1	0,07±0,03

\* – значения ПДК для сброса сточных вод в водоемы (ГН 2.1.5. – 1315 – 03)

\*\* – ориентация точек отбора проб воды по сторонам света

Для определения степени загрязнения отстойника СВ КОС г. Жанаозен выполнен расчет гидрохимического индекса загрязнения воды (ИЗВ) [6]. Индекс был рассчитан по формуле:

$$ИЗВ = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{C_i}{ПДК_i} \quad (1)$$

где  $C_i$  – концентрация ЗВ,  $N$  – число используемых в расчете показателей, ПДК<sub>*i*</sub> – установленная величина для соответствующего водного объекта.

Расчет проведен для 6 (шести) компонентов, которые имеют наибольшую кратность превышения  $\frac{C_i}{ПДК_i}$ , то есть  $N = 6$  (Fe<sub>общ</sub>, Cu, As, Cd, Zn, НП).

По результатам расчета ИЗВ, что согласно классификации качества воды водоема, исходя

из компонентов-загрязнителей, состояние воды в фоновой точке 1 отстойника характеризуется как «чистое». Такое «чистое» состояние воды в юго-западной части отстойника СВ объясняется тем, что в этой части имеется «островок» площадью 0,6 га, который скорее всего является «барьером» для ЗВ таблица 2. И этому подтверждением является наличие в этом районе водоплавающих (уток).

В точке 2 на западе отстойника воды «умеренно загрязненные» и в точке 4 (водовыпуск КОС) состояние воды оценивается как «грязное».

Наиболее, то есть «чрезвычайно загрязненными» являются воды в северной точке 3 отстойника. При этом приоритетными ЗВ являются тяжелые металлы Fe<sub>общий</sub> и кадмий Cd, а также металлоид мышьяк As.

**Таблица 2** – Величина ИЗВ в пробах воды отстойник для точек 1 (фон), 2, 3 и 4

Гидрохимический индекс загрязнения воды	Точки отбора проб воды из отстойника							
	1 (фоновая) (ЮЗ)		2 (З)		3(С)		4 (В)	
	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
ИЗВ	0,43	0,36	1,38	1,31	41,3	49,97	5,16	4,56
ИЗВ <sub>средний</sub>	0,395		1,345		45,635		4,86	

Донные отложения (ДО). В той связи, что величины ПДК в РК для донных отложений не установлены, для оценки загрязнения отстойника СВ КОС были использованы ПДК ТМ в почвах [7]. Вместе с этим, использованы данные фоновых значений (ФЗ) ТМ в ДО отстойников и накопителей СВ Мангистауской области, а также фоновые значения ТМ и металлоида непосредственно в точке 1 исследуемого отстойника.

Результаты исследований и анализа содержания тяжелых металлов и металлоида мышьяка, а также нефтепродуктов, приведены в таблице 3.

Содержание меди в ДО. Фоновая точка 1<sub>ДО</sub>. Концентрация Cu, менее ПДК РК, но фоновые значения по области превышены (1,08 и 1,13 ПДК, весной и летом 2019 г. соответственно). Наибольшее превышение ПДК медью в северной точке 3<sub>ДО</sub>. Превышение ПДК РК составляет 1,79 весной и 1,9 ПДК летом, а фоновые значения (ФЗ) Мангистауской области (МО) превышены более, чем в три раза. Наибольшие концентрации металлоида мышьяка зафиксированы в точках 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub>. Содержание As в точках 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub> по отношению к ПДК РК (7,05 и 7,5 ПДК) и (6,0 и 7,5 ПДК весной и летом соответственно). А фоновые значения превышены в среднем на величину 1,6 ПДК. Повышенное значение фонового показателя области по мышьяку 8,7 мг/кг при ПДК РК, равного 2,0 мг/кг, объясняется, тем, что повышенное содержание металлоида в

почвах области имеет природный характер. По кадмию превышение ПДК РК (0,5 мг/кг) в точке 3<sub>ДО</sub> составляет 1,46 и 1,8 ПДК, а фоновый показатель (0,13 мг/кг) превышен на 5,62 и 6,92 ПДК весной и летом соответственно. По цинку превышения ПДК РК (110 мг/кг) нет, при этом концентрация Zn, в точке 3<sub>ДО</sub> больше фонового значения региона (23,0 мг/кг). Так, в точке 3<sub>ДО</sub> – 1,18 и 1,21 ПДК.

Что касается хрома, то его содержание превышает как ПДК РК, так и ФЗ МО в целом. Согласно результатам анализа, концентрация Cr<sup>3+</sup>, наибольшие показатели опять же в точках 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub> в среднем в пределах 1,1 ПДК, при ПДК РК (41,0 мг/кг). Фоновые значения ФЗ МО в этих точках 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub> превышены более, чем в 3,0 раза.

Загрязнение ДО нефтепродуктами (НП), по результатам исследований, только в точке 3<sub>ДО</sub>. Концентрация НП в этой точке выше ФЗ МО в 2,4 раза. При этом превышения ПДК РК (110 мг/кг) по всем точкам нет. Наибольшие концентрации ТМ и металлоида в северной точке 3<sub>ДО</sub> объясняются высокой сорбирующей способностью ее донных отложений как с поверхности воды, так и из-за смыва осадками и слива загрязнений с береговой части отстойника. Динамика концентрации в ДО меди, хрома, мышьяка кадмия представлена на рисунке 1. Концентрация в донных отложениях отстойника цинка и нефтепродуктов показана на рисунке 2.

**Таблица 3** – Содержание ЗВ в донных отложениях отстойника СВ КОС, мг/кг

Элементы	ПДК*	Фон**	№ точки отбора проб донных отложений из отстойника СВ КОС							
			Фон 1 <sub>(ДО)</sub> (ЮЗ)***		2 <sub>(ДО)</sub> (З)***		3 <sub>(ДО)</sub> (С)***		4 <sub>(ДО)</sub> (В)***	
			2019 г		2019 г		2019 г		2019 г	
			Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
			Mean±SD							
Cu, мг/кг	33,0	19,0	20,7±0,04	21,5±0,06	34±0,03	38,0±0,02	59,3±0,07	63±0,03	27±0,02	29,3±0,06
As, мг/кг	2,0	8,7	7,3±0,01	7,9±0,03	9,2±0,01	11,3±0,05	14,1±0,06	15±0,03	13±0,04	15±0,02
Cd, мг/кг	0,5	0,13	0,04±0,03	0,06±0,05	0,1±0,02	0,11±0,06	0,73±0,03	0,9±0,02	0,09±0,2	0,07±0,1

Элементы	ПДК*	Фон**	№ точки отбора проб донных отложений из отстойника СВ КОС							
			Фон 1 <sub>(ДО)</sub> (ЮЗ)***		2 <sub>(ДО)</sub> (З)***		3 <sub>(ДО)</sub> (С)***		4 <sub>(ДО)</sub> (В)***	
			2019 г		2019 г		2019 г		2019 г	
			Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето	Весна	Лето
			Mean±SD							
Zn, мг/кг	110	23,0	9,3±0,05	9,7±0,03	13±0,02	13,9±0,04	27,3±0,06	28±0,03	18±0,05	17,3±0,03
Cr <sup>3+</sup> , мг/кг	41,0	14,0	17,3±0,04	18,1±0,02	23±0,04	26,3±0,05	45,7±0,03	47±0,02	43±0,05	46,2±0,03
НП, мг/кг	100	35,0	11,5±0,03	13,7±0,05	17±0,03	18,3±0,04	51,3±0,06	54±0,03	24±0,03	26±0,05

\* - ПДК РК. (Совместный приказ Министерства здравоохранения РК от 30. 01. 2004 г. № 99 и Министерства охраны ОС РК от 27. 01. 2004 г. № 21-п).

\*\* - данные по фоновому содержанию ТМ в ДО отстойников и накопителей СВМангистауской области

\*\*\*- ориентация точек отбора проб (донных отложений) ДО по сторонам света

В РК, как и в РФ, не разработана единая методика по оценке загрязнения ДО загрязняющими веществами. Для оценки степени загрязнения ДО тяжелыми металлами используем известные методики и оценим их достоинства и недостатки.

На первоначальном этапе нами выполнен расчет коэффициента донной аккумуляции (КДА), используемый в виде индикатора загряз-

нения водоема. КДА рассчитывается по формуле [8-10]:

$$КДА = \frac{C_{ДО}}{C_{Вода}} \quad (2)$$

где  $C_{до}$  – концентрация вещества в донных отложениях (мг/кг),  $C_{вода}$  – концентрация вещества в воде (мг/л), отобранной в одной и той же точке водоема.

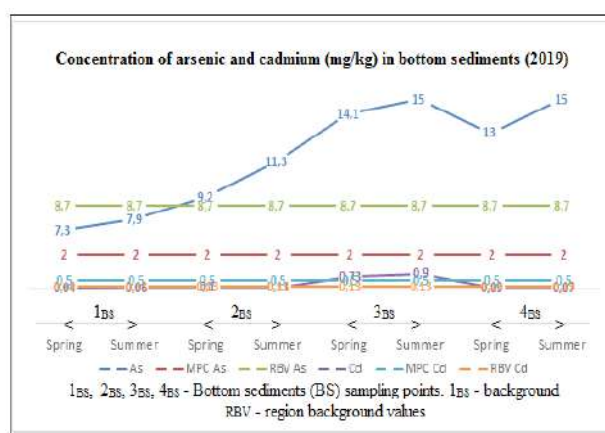
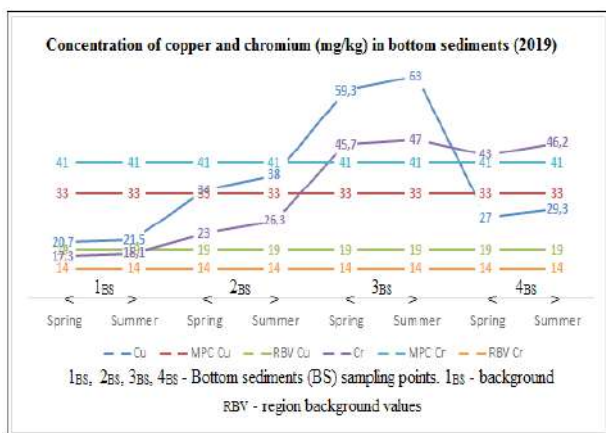


Рисунок 1 – Динамика концентрации меди, хрома, мышьяка и кадмия в ДО

Из данных таблицы 4 ясно видно, что самое удовлетворительное состояние при низких концентрациях ЗВ в воде и ДО, в частности по цинку, при  $КДА < 10$  (8,7) в фоновой точке 1 весной 2019 г (без признаков хронического загрязнения). Но, в остальных точках 2, 3 и 4  $КДА > 10$ , что свидетельствует о незначительном поступлении в эту точку свежих загрязнений. При этом, самые высокие показатели по меди Cu, в фоновой точке 1 (20700 и 21500, весной и летом соответственно), при  $КДА > 10^4$  (высокий уровень загрязнения от-

стойника). Фактически, величина КДА должна быть обратной, то есть намного ниже. Причина в том, что показатель КДА в точке 1 (фон), оказался высоким из-за высоких концентраций меди в ДО (20,7 и 21,5) и очень низких концентраций этого вещества в воде отстойника (0,001 и 0,001). Загрязнение металлоидом мышьяком в точке 4 (водовыпуск КОС), согласно величине, также имеет высокий показатель КДА в среднем 14000 (высокий уровень загрязнения), хотя превышение порядка 7 ПДК.

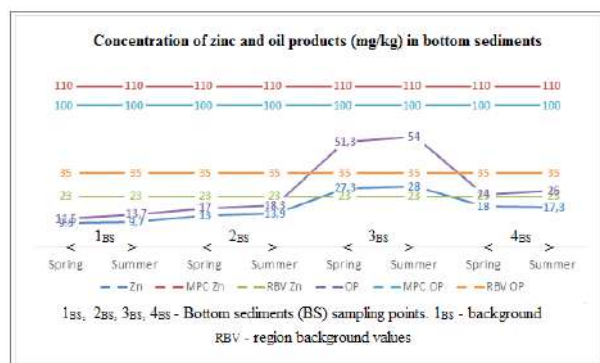


Рисунок 2 – Концентрация цинка и нефтепродуктов в ДО отстойника СВ

По результатам исследований, наибольшие концентрации зафиксированы для кадмия в точке 3 (0,03 и 0,04 мг/дм<sup>3</sup> с превышением ПДК 30,0

и 37,0 ПДК в воде, и 0,73 и 0,6 мг/кг, с 1,46 и 1,9 ПДК) в ДО, что свидетельствует только о повышенной концентрации кадмия только в воде. Это, скорее всего, объясняется высокими концентрациями цинка в воде и меди и мышьяка в донных отложениях.

Для получения более точной характеристики оценки загрязнения исследуемого отстойника воспользуемся другими известными методиками.

Количественный метод оценки загрязнения ДО, то есть индекс геоаккумуляции Igeo, разработан в Германии Г. Мюллером [11]. Этот метод имеет ограничения для его применения, так как может быть использован только для тонкой фракции ДО. Для оценки донных отложений нашей области, сложенных из песчаной фракции и известняков, эта методика не подходит.

Таблица 4 – Показатели значений КДА в отстойнике СВ КОС г. Жанаозен

Вещество	№ точки отбора проб донных отложений в отстойнике СВ КОС с глубины 1,3 м								Среднее значение КДА	
	Фон 1 <sub>(ДО)</sub> (ЮЗ)***		2 <sub>(ДО)</sub> (З)***		3 <sub>(ДО)</sub> (С)***		4 <sub>(ДО)</sub> (В)***			
	2019 г.		2019 г.		2019 г.		2019 г.		2019 г.	
	весна	лето	весна	лето	весна	лето	весна	лето	весна	лето
Cu	20700	21500	200,0	180,9	423,6	316,0	207,7	209,3	5382,83	5551,55
As	3650,0	4647,1	1150,3	2260,4	23,5	21,4	13000	15000	4455,95	5482,22
Cd	253,3	400,0	526,3	1000,0	24,33	24,32	526,3	523,8	<b>332,58</b>	<b>487,03</b>
Zn	10,3	13,9	8,7	10,0	<b>15,1</b>	<b>13,3</b>	<b>16,4</b>	<b>17,5</b>	<b>12,63</b>	<b>11,175</b>
Cr	865,2	900,0	696,7	730,6	1142,5	1175,2	1433,3	1540,0	1034,43	1086,45

Известен и широко используется в настоящее время очень простой метод, который основан на концентрации ТМ в ДО [12]. Разработан метод Агентством по охране окружающей среды США U.S. Environment Protection Agency (USEPA). На следующем этапе, за счет сравнения полученных нами данных концентрации ТМ и металлоида в таблице 3, с нормативами USEPA, выясним степень загрязнения ДО отстойника СВ КОС. Содержание в ДО меди. В фоновой точке 1<sub>ДО</sub> при содержании меди в донных отложениях (20,7 и 21,5 мг/кг, весной и летом соответственно), согласно нормативам USEPA (<25), ДО – незагрязненные. В точках 2<sub>ДО</sub> (34,0 мг/кг весной и 38,0 мг/кг летом) и 3<sub>ДО</sub> (59,3 мг/кг весной и 63,0 мг/кг летом) и в точке 4<sub>ДО</sub> (27,0 мг/кг весной и 29,3 мг/кг летом), ДО – умеренно загрязненные при нормативе USEPA (25-75). Уровень загрязнения

ДО металлоидами, в частности мышьяком в нормативах не учтен.

Что касается кадмия, содержание его в ДО низкое (от 0,04 мг/кг до 0,9 мг/кг). При этом в нормативах для незагрязненных и умеренно загрязненных ДО данных по содержанию кадмия нет. Для сильно загрязненных ДО уровень загрязнения кадмием (>6).

Вместе с этим и по цинку нет возможности использования этой методики. По нормативам USEPA, для Zn для незагрязненных ДО (<90), умеренно загрязненных – 90-200, сильно загрязненных более 200, тогда как у нас содержание цинка от 9,3 мг/кг до 28,0 мг/кг в целом. По содержанию в ДО хрома, при его концентрациях в точках 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub> от 43,0 мг/кг до 47,0 мг/кг, по нормативам USEPA (25-75), ДО – умеренно загрязнены Cr.

Из анализа использования этого метода видно, что нет возможности для конкретной оценки экологического состояния водного объекта. Причиной этому является, скорее всего, особенности геохимического фона исследуемого района.

Еще одна известная методика – сравнительная оценка загрязнения ДО, при которой определяется показатель накопления металлов:

$$ПН = \frac{C_i - C_{\phi}}{C_{\phi}} \cdot 100\% \quad (3)$$

где  $C_i$  и  $C_{\phi}$  – концентрация вещества на рассматриваемом и фоновых участках.

Этот показатель характеризует превышение содержания исследуемого вещества в данной точке отбора проб относительно фоновых концентраций, но только расчет коэффициентов концентрации не позволяет выполнить оценку загрязнения водоема по содержанию ТМ в ДО. Причиной этому является необходимость критериев оценки и уровней градации степени загрязнения ДО и водного объекта в целом.

Далее, в целях получения объективной оценки состояния и степени загрязнения ДО тяжелыми металлами используем показатель суммарного показателя загрязнения и выполним расчет по нескольким формулам.

Так, среди наиболее известных критериев оценки техногенного воздействия на ДО выделяется суммарный показатель загрязнения (СПЗ) или  $Z_c$ . Для получения наиболее объективной оценки в нем используются фоновые значения концентрации веществ.

1. Показатель Ю.Е. Саета  $Z_c$  обладает гигиенически обоснованной шкалой опасности загрязнения. Расчет его может производиться непосредственно для точки отбора проб или створа наблюдения по всем изучаемым ТМ. Формула расчета суммарного показателя загрязнения  $Z_c$ :

$$Z_c = \sum_{i=1}^n (K_c) - (n - 1) \quad (4)$$

где  $Z_c$  – коэффициент концентрации, состоящий из отношения концентрации металла в почве к фоновому значению,  $n$  – количество элементов, содержание которых превышает фоновые значения концентрации изучаемых элементов.

2. Показатель СПЗ с учетом разной токсичности тяжелых металлов  $Z_{(cm)}$  [5, 10] рассчитывается по формуле 5.

$$Z_{CT} = \sum (K_{Ci} \times K_{Ti}) - (n - 1) \quad (5)$$

где  $K_{Ti}$  – коэффициент токсичности  $i$ -ого элемента.

Чтобы для СПЗ по формуле 3 оставалась актуальной шкала критических суммарных показателей Ю.Е. Саета, для элементов второго класса опасности следует использовать  $K_T = 1,0$ , третьего класса опасности  $K_T = 0,5$ , первого класса опасности  $K_T = 1,5$ . Исследуемые в этой работе ТМ относятся к первому (высокоопасному) классу опасности Pb, Cd, Zn и Cr, и ко второму умеренно опасному медь Cu и никель Ni [6].

3. Для оценки состояния почв и донных отложений [11, 14] широко применяется показатель суммарного загрязнения ( $Z_{CT(r)}$ ), учитывающий средние геометрические коэффициенты концентрации ТМ. Показатель в последнее время часто применяется в целях полиэлементного загрязнения почв и донных отложения по формуле 6.

$$Z_{CT(r)} = n \times (K_{C1} \times K_{C2} \times K_{Cn})^{\frac{1}{n}} - (n - 1) \quad (6)$$

4. Приведем также формулу комплексного показателя суммарного загрязнения почв, который учитывает не только среднее геометрическое значение коэффициента  $K_c$ , но и токсичность тяжелых металлов,  $Z_{CT(r)}$  [10]. Рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{CT(r)} = n \times ((K_{C1} \times K_{T1}) \cdot (K_{C2} \times K_{T2}) \cdot (K_{Cn} \times K_{Tn}))^{\frac{1}{n}} - (n - 1) \quad (7)$$

Для выполнения расчетов по приведенным выше формулам (2-5) на основе результатов анализов, представленных в таблице 3, были произведены вычисления коэффициента концентрации выявленных в ДО тяжелых металлов и металлоида, по следующей формуле:

$$K_c = \frac{C_i}{C_{\phi_{он}}} \quad (8)$$

где  $C_i$  фактическое содержание вещества в почве, мг/кг;  $C_{\phi_{он}}$  – зональный фоновый показатель вещества, мг/кг.

При расчете коэффициента концентрации  $K_c$  использованы данные фоновых значений ТМ в ДО отстойников и накопителей сточных вод Мангистауской области. Были приняты средние значения концентрации выявленных элементов в донных отложениях отстойника сточных вод КОС за весенне-летний период.



Данные результатов расчетов по формулам (2)-(6) представлены в таблице 5.

Для расчетов были использованы 5 формул. Расчет  $K_c$ , с учетом всех значений эле-

ментов вне зависимости от их величин по отношению к фоновым значениям (менее фоновых), позволил учесть все изучаемые элементы в ДО.

**Таблица 5** – Результаты расчетов параметров техногенных геохимических ассоциаций в донных отложениях отстойника СВ КОС г. Жанаозен

№ точки отбора проб донных отложений	Суммарный показатель загрязнения ДО				
	$Z_c$	$Z_c$ при $K_c > 1$	$Z_{CT}$	$Z_{C(r)}$	$Z_{CT(r)}$
1 <sub>(ДО)</sub> (ЮЗ)	0,9	1,38	1,58	0,66	1,45
2 <sub>(ДО)</sub> (З)	2,17	2,83	4,31	1,05	2,7
3 <sub>(ДО)</sub> (С)	8,1	8,1	12,48	7,25	9,3
4 <sub>(ДО)</sub> (В)	3,65	4,28	6,74	2,45	3,3

Но при этом условии не может быть выполнена основная цель – выявление загрязняющих веществ (ЗВ). В этой связи, при расчете  $Z_c$ , принимались значения  $K_c > 1$ , так как для выявления загрязнения ДО ЗВ указанное значение должно быть более 1. То есть, значение фактической концентрации вещества (формула 6) должно быть больше фоновой концентрации, что дает возможность узнать о накоплении ТМ в ДО. Такой подход с  $K_c > 1$  дает более объективную оценку загрязнения [5, 10, 14]. При  $K_c > 1$  наблюдалось увеличение между показателями  $Z_c$  и  $Z_{CT}$  при  $K_c > 1$ , в точке 1<sub>(ДО)</sub> на 65,22% и в точке 2<sub>(ДО)</sub> на 76,68%, что объясняется тем, что при учете всех элементов увеличивается и разница, а при  $K_c > 1$  уменьшается. Так, в точке 1<sub>(ДО)</sub>  $K_c$  только для 2 элементов (меди и хрома) больше 1, а в точке 2<sub>(ДО)</sub> для 3 элементов (меди, мышьяка и хрома). Для точки 3<sub>(ДО)</sub>, где для всех элементов  $K_c > 1$  значения не изменились (8,1).

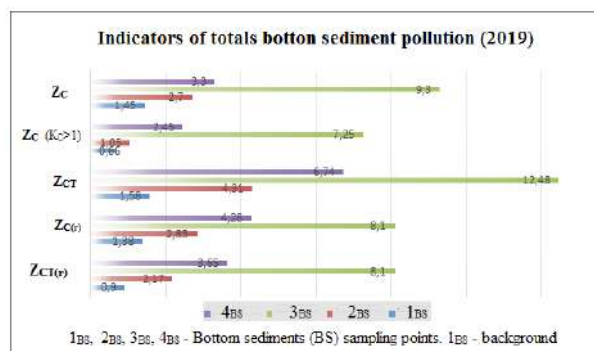
При расчете  $Z_{CT}$ , с учетом степени токсичности (опасности) ЗВ, повышение показателей на 87,34% в точке 1<sub>(ДО)</sub> и во второй 2<sub>(ДО)</sub>, до 65,66%. Это объясняется тем, что для наиболее токсичных тяжелых металлов Cd и Zn и металлоида As, относящихся к 1 классу опасности, применяется  $K_T = 1,5$ .

Показатель  $Z_{C(r)}$ , согласно трудам ученых США, имеет большое значение при оценке полиэлементного загрязнения, а также при расчете среднего содержания ТМ в ДО.

Показатель  $Z_{CT(r)}$ , который предложен Ю.Н. Водяницким, представляет собой симбиоз всех предыдущих подходов с учетом их достоинств и недостатков. Значения, полученные по

формуле (5), имеют отклонения от показателя Ю.Е. Саета, формула (2). Преимуществом показателя является учет токсичности ТМ, их концентрации, а также учет среднегеометрической величины, исключает погрешности в расчетах относительно высоких  $K_c$ . Так, в точках 1<sub>(ДО)</sub> значение показателя  $Z_{CT(r)}$  больше значения показателя  $Z_c$  на 95,17%, а в самой загрязненной точке 3<sub>(ДО)</sub> на 87,1%, что зависит от учета  $K_c > 1$ .

Таким образом, по шкале Ю.Е. Саета, только в точке 3<sub>(ДО)</sub> согласно ориентировочной шкалы при  $Z_c = 8,1$  (<10) уровень техногенного загрязнения «слабый», а степень санитарно-токсикологической опасности «допустимая». А для  $Z_{CT}$  в этой же точке 3<sub>(ДО)</sub> при величине его, равной 12,48, уровень техногенного загрязнения средний. При этом, для наших исследований, содержание всех ТМ и металлоида мышьяка в ДО повышено.



**Рисунок 3** – Показатели суммарного загрязнения ДО по формулам (2)-(6)



Самые наименьшие значения получены по  $Z_{C(r)} = 0,66$  (фоновая точка 1<sub>(ДО)</sub>) и  $Z_{C(r)} = 1,05$  (точка 2<sub>(ДО)</sub>). Что касается показателя  $Z_{CT(r)}$ , меньшее его значение получено также в точке 1<sub>(ДО)</sub>, а наибольшее в точке 3<sub>(ДО)</sub>. Таким образом,  $Z_{C(r)}$  дает самые минимальные значения загрязнения и этот результат получается из-за того, что не учитываются коэффициенты техногенности  $K_T$ . В этой связи, наиболее приемлемыми могут быть результаты  $Z_{CT(r)}$  Ю.Н. Водяницкого.

## Выводы

Расчет ИЗВ показал, что воды в точках 1 и 2 «чистые». На водной глади фоновой точки 1 зафиксировано наличие водоплавающих перелетных уток и в береговой части крупного рогатого скота. «Чрезвычайно загрязненными» являются воды в точке 3.

Результаты расчета коэффициента донной аккумуляции (КДА) показали, что в фоновой точке 1 при  $K_{DA} > 10^4$  (высокий уровень загрязнения) из-за высоких показателей меди, но при этом превышение ПДК меди невелико. В точке 3 при превышении по кадмию 30,0 и 37,0 ПДК в воде и 0,73 и 0,6 ПДК в ДО показателя КДА самый низкий. Значения КДА Cu в точке 1 и As в точке 4 выше средних значений показателей

по остальным точкам. КДА Zn в 3 точке самое низкое. Это объясняется высокими концентрациями цинка в воде меди и мышьяка в донных отложениях.

Анализ загрязнения ДО по методу (USEPA). В фоновой точке 1<sub>ДО</sub> отстойника, согласно нормативам USEPA (<25), ДО – незагрязненные. В точках 2<sub>ДО</sub>, 3<sub>ДО</sub> и 4<sub>ДО</sub> донные отложения «умеренно загрязненные» по нормативу USEPA (25-75). Уровень загрязнения ДО металлоидов, в частности мышьяком, в нормативах не учтен.

В основе расчета суммарного показателя загрязнения ДО были значения, которые были получены в результате анализа по содержанию Cu, Cd, Zn, Cr<sup>3+</sup> и As в ДО. Это позволило выполнить общую оценку по степени загрязнения ДО отстойника СВ КОС.

При расчете  $Z_C$  при  $K_C > 1$  не учитывались  $K_C$ , As, Cd и Zn в точке 1<sub>(ДО)</sub>, Cd и Zn в точках 2<sub>(ДО)</sub> и 4<sub>(ДО)</sub>. Поэтому для фоновой точки 1<sub>(ДО)</sub> получен наименьший СПЗ.

Таким образом, результаты оценки расчета суммарного загрязнения отстойника, находящегося практически в черте г. Жанаозен, который превращает его в опасный объект, позволяют разработать наиболее экономически целесообразный и экологически чистый способ по очистки вод.

## Литература

- 1 Skeffington R. A., Halliday S. J., Wade A. J., Bowes M. J. Using high-frequency water quality data to assess sampling strategies for the EU Water Framework Directive. *Hydrology and Earth System Sciences*. – 2015. – no. 9. – P. 2491–2504. doi.:10.5194/hess-19-2491-2015.
- 2 Абуова Г.Б., Боронина Л.В., Рахметова М.К., Ситников С.Г. Оценка эффективности работы канализационных очистных сооружений в малых населенных пунктах аридной зоны // *Материалы X – Юбилейной международной научно-практической конференции «Технологии очистки воды «Техновод-2017»*. – 2017. – С. 196-202.
- 3 Андреев Д.Н. Суммарное химическое загрязнение почв тяжелыми металлами в различных биотопах на территории Вишерского заповедника // *Известия Самарского научного центра РАН*. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 283-287.
- 4 Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор) // *Почвоведение*. – 2013. – № 7. – С. 872-881.
- 5 Саэт Ю.Е., Ревич Б.А. Геохимия окружающей среды. – М.: Недра, 1990. – 335 с.
- 6 Водяницкий Ю.Н. Формулы оценки суммарного загрязнения почв тяжелыми металлами и металлоидами // *Почвоведение*. – 2010. – № 10. – С. 1276-1280.
- 7 Алексеев И.И. Содержание тяжелых металлов, мышьяка и углеводородов в почвах населенных пунктов Ямало-Ненецкого автономного округа // *Гигиена и санитария*. – 2016. – 95(9). – С. 818-821.
- 8 Kumar J., Zhao Y. A review on numerous modeling approaches for effective, economical and ecological treatment wetlands // *Journal of Environmental Management*. – 2011. – Vol. 92. – P. 400-406. doi.:10.1016/j.jenvman.2010.11.012.
- 9 Ariel K.W., Francina D.A., Arthur R.S. Extreme Precipitation Spatial Analog: In Search of an Alternative Approach for Future Extreme Precipitation in Urban Hydrological Studies // *Water*. – 2019. Vol. 11. – P. 1032. doi.: 10.3390/w11051032.
- 10 Chujko E.V., Popova O.V. The accumulation of heavy metals in sediments of the western part of the north Caspian // *South of Russia: ecology, development*. 2014. – Vol. 8. – P. 11-15. doi.: 10.18470/1992-1098-2013-1-11-15.
- 11 Коновалова Э.Е. Анализ зарубежных методик содержания тяжелых металлов в донных отложениях рек // *Международный студенческий научный вестник*. – 2018. – № 6.
- 12 Ebru Y.Ö., Eutrofik B., Körfezde İ. A New Assessment of Heavy Metal Contaminations in an Eutrophicated Bay // *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. – 2012. – Vol. 12. – P. 135-147. doi.: 10.4194/1303-2712-v12.1.16.

13 Wu H., Zhang J., Ngo H.H., Guo W. A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation // *Bioresource Technology*. – 2015. – Vol. 175. – P. 594-601. doi.:10.1016/j.biortech.2014.10.068.

#### References

- 1 Skeffington, R. A., Halliday, S. J., Wade, A. J., Bowes, M. J. “Using high-frequency water quality data to assess sampling strategies for the EU Water Framework Directive. *Hydrol*”. *Earth Syst. Sci.* 9. (2015): 2491–2504. doi.:10.5194/hess-19-2491-2015.
- 2 Abuova, G.B., Boronina, L.V., Rahmetova, M.K., Sitnikov, S.G. “Ocenka effektivnosti raboty kanalizacionnyh ochistnyh sooruzhenij v malyh naseleennyh punktah aridnoj zony” [Assessment of the efficiency of sewage treatment plants in small settlements of the arid zone]. *Materials of the X-Anniversary international scientific and practical conference “Water treatment technologies «Technovod-2017”*. (2017): 196-202.
- 3 Andreev, D.N. “Summarnoe himicheskoe zagryaznenie pochv tyazhelymi metallami v razlichnyh biotopah na territorii Visherskogo zapovednika [Total chemical contamination of soils with heavy metals in various biotopes on the territory of the Vishersky reserve]”. *Izvestiya Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences* 18 (2016): 283-287.
- 4 Vodyanickij, YU.N. *Zagryaznenie pochv tyazhelymi metallami i metalloidami i ih ekologicheskaya opasnost' (analiticheskij obzor)* [Pollution of soils with heavy metals and metalloids and their environmental hazard (analytical review)]. *Soil science.* 7 (2013): 872-881.
- 5 Saet, YU.E., Revich, B.A. *Geohimiya okruzhayushchej sredy* [Geochemistry of the environment]. Moscow: 1990.
- 6 Vodyanickij, YU.N. “Formuly ocenki summarnogo zagryazneniya pochv tyazhelymi metallami metalloidami” [Formulas for estimating total soil contamination with heavy metals and metalloids]. *Soil science.* No 10 (2010): 1276-1280.
- 7 Alekseev, I.I. “Soderzhanie tyazhelyh metallov, mysh'yaka i uglevodorodov v pochvah naseleennyh punktov YAmalo-Ne-neckogo avtonomnogo okruga” [The content of heavy metals, arsenic and hydrocarbons in the soils of settlements of the Yamalo-Ne-nets Autonomous district]. *Hygiene and sanitation.* 95 (2016): 818-821.
- 8 Kumar, J., Zhao, Y. “A review on numerous modeling approaches for effective, economical and ecological treatment wetlands”. *Journal of Environmental Management.* 92 (2011): 400-406. doi.:10.1016/j.jenvman.2010.11.012.
- 9 Ariel, K.W., Francina, D.A., Arthur, R.S. “Extreme Precipitation Spatial Analog: In Search of an Alternative Approach for Future Extreme Precipitation in Urban Hydrological Studies”. *Water.* 11 (2019): 1032. doi.: 10.3390/w11051032.
- 10 Chujko, E.V., Popova, O.V. “The accumulation of heavy metals in sediments of the western part of the north Caspian”. *South of Russia: ecology, development.* 8 (2014): 11-15. doi.: 10.18470/1992-1098-2013-1-11-15.
- 11 Konovalova, E.E. “Analiz zarubezhnyh metodik sodержaniya tyazhelyh meetallov v donnyh otlozheniyah rek” [Analysis of foreign methods of heavy metal content in bottom sediments of rivers]. *International student scientific Bulletin.* No 6 (2018).
- 12 Ebru, Y.Ö., Eutrofik, B., Körfezde, İ. “A New Assessment of Heavy Metal Contaminations in an Eutrophicated Bay”. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 12 (2012): 135-147. doi.: 10.4194/1303-2712-v12.1.16.
- 13 Wu, H., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W. “A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation”. *Bioresource Technology.* 175 (2015): P. 594-601. doi.:10.1016/j.biortech.2014.10.068.



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

---

Section 3  
**ACTUAL PROBLEMS  
OF BIODIVERSITY CONSERVATION**

---

Раздел 3  
**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
СОХРАНЕНИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ**

**М. Нурулла<sup>1\*</sup>, Г.Н. Кадисова<sup>1</sup>, Ч.Г. Байсакалов<sup>2</sup>,  
А.Ш. Сабирова<sup>2</sup>, А.К. Жумабаева<sup>2</sup>, А.К. Жолдасова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>М. Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан мемлекеттік университеті, Қазақстан, Орал қ.

<sup>2</sup>«Республикалық фитосанитарлық диагностика және болжамдар әдістемелік орталығы»

РММ Мұғалжар аудандық филиалы, Қазақстан, Қандыағаш қ.

\*e-mail: mutya.93@mail.ru

## **МҰҒАЛЖАР АУДАНЫ АЙМАҒЫНДАҒЫ ИТАЛЬЯНДЫҚ ШЕГІРТКЕ (*CALLIPTAMUS ITALICUS* L.) САНЫНЫҢ МАУСЫМДЫҚ ДИНАМИКАСЫ**

Мақалада Ақтөбе облысының Мұғалжар ауданында ауыл шаруашылық дақылдары үшін ең қауіпті зиянкестердің бірі итальяндық шегіртке (*Calliptamus italicus* L.) популяцияларының қазіргі жағдайы сипатталады. Аудандағы итальяндық шегірткенің жергілікті популяциясының жылдық динамикасы ауыл шаруашылық аумақтарында 2019 жылы көктемгі, көктемгі-жазғы, жазғы, күзгі жүйелі есеп жүргізу жұмыстарындағы нәтижелері бойынша берілген. Итальяндық шегірткенің күбіршелерін зерттеу бойынша 2.0 мың га жерде жүргізілген көктемгі мониторингтік тексеру жұмыстары кезінде Еңбек, Құмжарған, Батпақкөл, Талдысай және Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округтеріндегі мемлекеттік жерлерінде шегіртке күбіршелері 0.33 мың га жерде байқалды. 1 шаршы метрге орташа есеппен тығыздығы 4-4.8 дана. Күбіршенің ішіндегі жұмыртқаларының саны 26-28 дана. Күбіршелер 37-40% жерді зақымдаған. Аудан бойынша 20.0 мың га жер көлеміне жүргізілген көктемгі-жазғы мониторингтік тексеру жұмыстарында 0,06 мың га жерде итальяндық шегіртке дернәсілдерінің таралуы байқалды. 1 шаршы метрге шаққанда дернәсілдерінің тығыздығы 3-4 дана құрады. Еңбек ауылдық округінің мемлекеттік қор жерінде дернәсілдерінің пайда болуы анықталса, Құмжарған ауылдық округінің мемлекеттік қор жерінде итальяндық шегіртке қанаттану кезеңінде байқалды. Шағылысуы мен жұмыртқа салу кезін анықтау бойынша жүргізілген жазғы мониторингтік тексеру жұмысы барысында 90.0 мың га жерде итальяндық шегіртке ересектердің ұшып қоныстануы байқалмады. Күзгі мониторингтік тексеру жұмыстары кезінде Мұғалжар ауданы бойынша итальяндық шегіртке күбіршелері анықталмады. 2019 жылғы мониторингтік және жүйелі бақылау нәтижесі бойынша Мұғалжар ауданында қазіргі уақытта итальяндық шегірткелер санының депрессиясы бар екендігі анықталды.

**Түйін сөздер:** итальяндық шегірткелер, популяция, мониторинг, Мұғалжар ауданы, күбіршек, динамика.

M. Nurulla<sup>1\*</sup>, G.N. Kadisova<sup>1</sup>, C.G. Baysakalov<sup>2</sup>,  
A.Sh. Sadirova<sup>2</sup>, A.K. Zhumabaeva<sup>2</sup>, A.K. Zholdasova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>M. Utemisov West Kazakhstan University, Kazakhstan, Uralsk

<sup>2</sup>Mugalzhar district of the branch of the RSE «Republican methodological center

for phytosanitary diagnostics and prediction», Kazakhstan, Kandyagash,

\*e-mail: mutya.93@mail.ru

### **Seasonal dynamics number of the Italian Prus (*Calliptamus Italicus* L.) in the Mugalzhar region**

The article describes the current state of populations of the Italian locust (*Calliptamus italicus* L.), one of the most dangerous pests of agricultural crops in the Mugalzhar district of the Aktobe region. The annual dynamics of the local population of the Italian locust in this area is given according to the results of spring, spring-summer, summer and autumn systematic surveys in 2019 in agricultural areas. During the spring survey of 2.0 thousand hectares of state land in the rural districts of Enbek, Kumzhargan, Batpakkol, Taldysai and the K. Zhubanov, egg-pods of the Italian locust were found on 0.33 thousand hectares of the territory. Average density per 1 m<sup>2</sup> was 4-4.8 individuals. The number of eggs in a test tube was 26-28. Larvae damaged 37-40% of the land. During the spring-summer monitoring of 20.0 thousand hectares of land in this area, the spread of Italian locust larvae was observed on 0.06 thousand hectares. The density was 3-4 larvae per 1 m<sup>2</sup>. The appearance of larvae on the lands of the state reserve of the Enbekshi rural district was observed, while on the lands of the state reserve of the Kumzhargan rural district, the Italian locust was observed during the fledging period. During the summer monitoring,

carried out to determine the time of mating and laying of eggs, on the territory of 90.0 thousand hectares no adult locusts were observed. During autumn monitoring, no Italian locust larvae were found in the Mugalzhhar region. According to the results of monitoring and systematic observations in 2019, there is currently a decrease in the number of Italian locusts in the Mugalzhhar region.

**Key words:** Italian locust, population, monitoring, Mugalzhhar district, egg-pod, dynamics.

М. Нурулла<sup>1\*</sup>, Г.Н. Кадисова<sup>1</sup>, Ч.Г. Байсакалов<sup>2</sup>,  
А.Ш. Сабинова<sup>2</sup>, А.К. Жумабаева<sup>2</sup>, А.К. Жолдасова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Западно-Казахстанский государственный университет имени М. Утемисова, Казахстан, г. Уральск

<sup>2</sup>Мугалжарский районный филиал РГУ «Республиканский методический центр фитосанитарной диагностики и прогнозирования», Казахстан, г. Кандыагаш,

\*e-mail: mutya.93@mail.ru

### Сезонная динамика численности Итальянского Пруса (*Calliptamus Italicus* L.) на территории Мугалжарского района

В статье описывается современное состояние популяций Итальянской саранчи (*Calliptamus italicus* L.), одного из самых опасных вредителей сельскохозяйственных культур в Мугалжарском районе Актюбинской области. Годовая динамика местной популяции итальянского пруса в данном районе приведена по результатам весенних, весенне-летних, летних и осенних систематических учетов 2019 года в сельскохозяйственных районах. Во время весеннего обследования 2.0 тыс. га государственных земель сельских округов Енбек, Кумжарган, Батпакколь, Талдысай и округа им. К. Жубанова, кубышки итальянского пруса встречались на 0.33 тыс. га территории. Средняя плотность на 1 кв. м составлял 4-4.8 особи. Количество яиц в пробирке составляло 26-28. Личинки повредили 37-40% земель. В ходе весенне-летнего мониторинга 20.0 тыс. га земельной площади в этом районе наблюдалось распространение личинок итальянской саранчи на 0.06 тыс. га. Плотность личинок на 1 кв. м – 3-4. Было отмечено появление личинок на землях государственного заповедника Енбекского сельского округа, в то время как на землях государственного заповедника Кумжарганского сельского округа Итальянский Прус наблюдался в период окрыления. За летний мониторинг, проведенный для определения времени спаривания и укладки яиц, на территории 90.0 тыс. га. взрослых особей саранчи отмечено не было. Во время осеннего мониторинга в Мугалжарском районе не было обнаружено личинок итальянской саранчи. Согласно результатам мониторинга и систематических наблюдений, в 2019 году, в настоящее время наблюдается снижение численности итальянской саранчи в Мугалжарском районе.

**Ключевые слова:** Итальянская саранча, популяция, мониторинг, Мугалжарский район, кубышка, динамика.

### Кіріспе

Ғаламдық жылыну жайылымдық жерлердің шөлейттенуі мен жер бетіндегі шегіртке санының арту қаупін тудырды. Африка, Австралия, Оңтүстік Америка, Орталық, Солтүстік және Оңтүстік-Шығыс Азия елдерінің дала және шөлейт зоналары шегірткелердің жаппай көбейетін типтік аймақтар [1-3]. Барлық құрлықтарда шегірткелер өршуі бүкіл әлемде азық-түлік қауіпсіздігіне қауіп төндірді. Сібірлік және америкалық ғалымдар қоңыржай аймақтың экожүйелеріндегі шегірткелер жер үстіндегі фитомассаның 30 пайыздан көп мөлшерде тұтынатынын көрсетті [4]. Дала шегірткелері өсімдіктерді жеп қана қоймай, өздерін заттар мен энергиямен қамтамасыз етеді. Десек те, шегірткелер фитомассаның тек аз ғана бөлігін, шамамен 10 пайызын өздерінің тіршілік етуі үшін пайдаланады [5-6]. Қалған массаның бәрі

шегірткенің ас қорыту жолында симбиотикалық тіршілік ететін микроорганизмдерді В дәрумендерімен байытып, ұсақталған күйде сыртқа шығарылады [7]. Еліміздің экожүйесінің дала және шөлейт ландшафттарында саяқ және үйірлі шегірткелердің бірнеше түрлері кездеседі. Олардың 15-20 түрі еліміздің әртүрлі облыстарында ауыл шаруашылығы алқаптарына зиян келтіреді. Өніп-өсе бастағаннан топтанып жүретін аса қауіпті үйірлі шегірткелерге азиялық, мароккалық және итальяндық прус жатады [8-9].

Еліміздің батысында өндіріс мен ауыл шаруашылығы қатар дамыған Ақтөбе облысында аса қауіпті зиянкестердің 8 түрі кең таралған [10-11]. Біріккен Ұлттар Ұйымының Азық-түлік және ауылшаруашылық ұйымының (FAO БҰҰ) шешімімен ауыл шаруашылығы үшін ең қауіпті зиянкес шегірткенің бірі – итальяндық шегірткелер (прус) болып табылады. Көптеген жылдар бойғы зерттеулерге сүйенсек, Евразия-

дағы осы түрдің негізгі ошақтары (шамамен 70-75%) Қазақстанның далалық табиғи зоналарында, құрғақ және құрғақ даласында орналасқан [12-13]. Ақтөбе облысының ауыл шаруашылығы үшін де, ең үлкен экономикалық шығын келтіретін – итальяндық прус (итальяндық шегіртке).

Итальяндық прус немесе итальяндық шегіртке (*Calliptamus italicus* L.) – бунақденелілер класы, тура қанаттылар (*Orthoptera*) тобының зиянкес ретінде, ұзақ қашықтыққа көшу қабілетімен танымал. *Calliptamus italicus* L. жаппай көбеюі еліміздің барлық таралу аймағында әр түрлі жиіліктерде орын алды [14-15]. Ал, Ақтөбе облысының мал жайылымдық жерлері мен егіндіктерінде зиянкес шегірткенің 1995 – 2005 жылдар аралығында кең етек алғаны белгілі [16]. Ақтөбе облысының орталық бөлігінде орналасқан Мұғалжар ауданының егін шаруашылығы бағыты ауданның экономикасының дамуына үлес қосып отырған негізгі саласын құрайды. Ауданның аумағында астық тұқымдас дақылдарының жоғары және тұрақты шығымдылығын қамтамасыз ету жұмыстары жолға қойылған. Десек те, ауданның астық дақылдарына зиян келтіретін шегірткелер жыл сайын қайталана беретін өзекті мәселелердің бірі. Сол себепті, ауданында таралатын астық тұқымдас зиянкес шегірткелердің түрін анықтау қазіргі таңда ауданда кезек күттірмейін негізгі мәселелердің бірі. Шегіртке көбейетін учаскелерді ерте анықтау, тиімді бақылау мен болжау маңызды болып табылады. Ересек қанатты шегірткелердің қоныс аударуы кезінде болжау өте қиын, ал жылдың басынан жоспарлы түрде мониторинг жүргізу, зиянкестің алдын алудың бірден-бір жолы. Сондықтан, зерттеу жұмысының мақсаты Мұғалжар аймағындағы зиянкес итальяндық шегірткенің (*Calliptamus italicus* L.) таралу динамикасын анықтау үшін ауыл шаруашылық жерлеріне жылдық мониторингтік тексеру жұмыстарын жүргізу және болжам жасау.

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу жұмысы 2019 жылы Ақтөбе облысы Мұғалжар ауданындағы мемлекеттік қор жерлеріндегі:

1. Ақкемер ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері, «Умит» Ш/Қ);
2. Еңбек ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері, «Байқар» Ш/Қ);
3. Жұрын ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері, «Береке-Ж» Ш/Қ);

4. Құмжарған ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері);

5. Батпақкөл ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері);

6. Қ. Жұбанов ат. ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері, «Орқаш-А» ЖШС);

7. Талдысай ауылдық округі (Мемлекеттік қор жері) ауыл шаруашылықтар аумағы мен оған іргелес аумақтарда жүргізілді.

Зерттеу аймақтарына жүргізілген жұмыс Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі Агроөнеркәсіптік кешендегі мемлекеттік инспекция комитетінің «Республикалық фитосанитарлық диагностика және болжамдар әдістемелік орталығы» мемлекеттік мекемесі Мұғалжар аудандық филиалы қызметкерлерімен бірге ауыл шаруашылық дақылдарының зиянкестерін анықтау барысында жүзеге асырылды. Аумақтарда ауыл шаруашылық дақылдарының зиянкестерінің ішінде зиянкес шегірткелердің түрлік құрамы мен санын анықтау жұмыстарымен тығыз байланысты.

Жұмыс барысында энтомологиялық аулағышпен ору әдісі арқылы анықталған итальяндық, азиялық және саят шегірткелердің ішінде, аудан аумағы үшін аса қауіпті итальяндық прус (*Calliptamus italicus* L.) зерттеу нысаны ретінде таңдалды.

*Итальяндық прус – Calliptamus italicus* L. – Ересек шегірткенің реңі қоңыр түстен сұр түске дейін өзгереді. Аталығының денесінің ұзындығы шамамен 14.5 – 23.4 мм, ал аналығының денесінің ұзындығы шамамен 24.5 – 41 мм (1-сурет).



1-сурет – Еңбек ауылдық округі мемлекеттік қор жеріндегі итальяндық шегіртке дернәсілдері

Қойма қалтасының ұзындығы шамамен 22-41 мм дейін, жуандығы жоғарғы жағында 3.5-4 мм, астыңғы жағында 4-6 мм. Қойма қалтасының жоғарғы жағын көбікті түзіліспен толтырған.





2-сурет – Құмжарған ауылдық округіндегі итальяндық шегіртке дернәсілдері

Төменгі жағында шамамен 20-50-ге дейін болатын төрт қатар жұмыртқа орналасқан. Ұзындығы 4-5 мм, диаметрі 1-1.3 мм болатын жұмыртқалары сарғыш түсті. Дернәсілінің бірінші кезеңінде кара, ақ дақтары болады (2-сурет). Екінші кезеңінде дернәсіл қоңырланып, одан әрі сарғаяды, үшінші кезеңінде қанаттары пайда болады. Дернәсілінің бесінші кезеңінде қанаты құрсағының жартысына дейін жетеді, толық дамуы шамамен 30-40 күн аралығында өтеді. Зиянкес шегірткенің көп жылдық даму динамикасында жаппай көбеюлері мен депрессиялық фазалар кезектесіп отырады [17].

Ауданның ауыл шаруашылық аумағында итальяндық шегірткелердің күбіршіктері мен ересек дарактары кездесетін аумақтарының 2018 және 2019 жылдарында 4 кезеңмен есеп жүргізу жұмыстары зиянкес шегірткелердің санын анықтау әдістері атқарылды [18].

1. Италияндық шегірткенің күбіршіктерінің ауыл шаруашылық жерлерінде таралуы (көктемгі мониторингтік тексеру).

*Мақсаты* – ауылшаруашылық аумағындағы қыстап шыққан күбіршелердің санын бақылап, есеп жүргізу және дернәсілдердің жер бетіне шығу мерзімдерін анықтау.

Италияндық шегірткенің күбіршесін анықтау үшін жұмыстары белгіленген аумақтардағы күбіршіктерді есептеу жұмыстары көктемде қар еріп, жер кебе бастағанда жүргізілді. 2018 жылы күбіршелер салынған жерлерде жүргізілді. Тандалған учаскелердің белгілі бір бағытын таңдап, әрбір 100 метр сайын күрекпен топырақтың 5-8 сантиметр тереңдіктегі жоғары қабатынан қазылып сынамалар алынған.

Алынған топырақтарды майдалап, електен өткізіп, мұқият қаралу кезінде ондағы табылған жұмыртқалардың сандары анықталып, олардың

өлісі мен тірісі анықталып, бөлінді. Күбіршелер табылған жерлерге жалаушалары бар қазықша белгілер салынды. Табылған күбіршектер арнайы қапшықтарға салынып, этикеткіленіп зертханаға жеткізілді. Этикеткаға күбіршіктер табылған жер атауы, есеп жүргізілген күні мен маманның аты-жөні жазылды. Оның ішіндегі 1 шаршы метрдегі 1-ге дейін, 1.1-2-ге дейін, 2.1-5-ке дейін; 5.1-10-ға дейін; 10-нан жоғары түйір сандары мен күбіршіктермен зақымдалу пайызы есептелді.

Көктемгі есеп жүргізу жұмыстарының нәтижесі зиянкес шегірткелерге қарсы жүргізілетін жою шараларының көлемі айқындауға мүмкіндік береді.

2. Италияндық шегіртке дернәсілдерінің жазғытұрғы қоныстануы кезіндегі санын есептеу (көктемгі-жазғы мониторингтік тексеру)

*Мақсаты* – дернәсілдің орналасу орындары мен күндерін анықтау, шегірткенің жайлаған жерлері мен көлемін және оларды жою шараларының мерзімін, көлемін анықтау.

Зерттеу жұмысы белгіленген аумақтарда дернәсілдер шыға бастағаннан бастап, жою шаралары басталғанға дейін жүргізіледі. Есепке алынған аумақтың көлеміне байланысты итальяндық шегірткенің негізгі тіршілік ететін жерлері қамтылған, арақашықтығы шамамен 100-300 м-ге дейін созылған есеп жүргізу бағыттары анықталды. Оның ішіндегі 1 шаршы метрдегі 5-ке дейін, 10-ға дейін; 10-нан жоғары дернәсілдердің сандары мен болжаммен өңдеуге көлемі. Италияндық шегірткесінің тығыздығы (дарак/м<sup>2</sup>) анықталып, аудан бойынша олардың шегіртке жайлаған аумақ мөлшері ауыл шаруашылық жері мен жергілікті жердің карта-сұлбасында белгіленді.

Есептеу жұмыстарынан алынған мәліметтер аумақтардағы итальяндық шегірткелердің дернәсілдерін жою шараларының жоспарлауда, шегірткелерге қарсы химиялық жолмен өңдеу жұмыстарын тиімді жүргізуге және тиісті препараттардың түрі мен көлемін анықтауға мүмкіндік береді.

3. Италияндық шегірткенің шағылысуы мен жұмыртқа салу кезіндегі қоныстануы кезіндегі санын есептеу (жазғы мониторингтік тексеру)

*Мақсаты* – шегірткелердің көрінетін құрамын, популяцияның ауданын және санын анықтау, шағылысу мен жұмыртқалауы кезінде олардың шоғырланған жерлерін анықтау.

Италияндық шегіртке ересектердің қоныстануын анықтау барысында әрбір 100 метр сай-

ын, 1 м<sup>2</sup> есебімен көзбен шолу арқылы жүргізілді. Жазғы тексеру жұмыстары аяқталғаннан кейін итальяндық прус шегірткесінің 1 м<sup>2</sup> жердегі 5-ке дейін, 5-тен 10 данаға дейін және 10 данадан жоғары саны есептеледі.

Жазғы есеп жүргізу жұмыстарының нәтижесі зиянкес шегірткелерді келесі жылы жою шараларының көлемін жоспарлауға мүмкіндік береді.

4. Итальяндық шегірткенің күз мезгілінде күбіршіктерін есептеу (күзгі жүйелі бақылау)

*Мақсат* – шегірткелердің күбіршелерінің көбейген аудандарын және олардың тығыздығын анықтау.

Күз мезгілінде жүргізілген тексеру жұмыстары шегірткелердің жұмыртқалау аяқталған соң және өле бастаған кезден, тамыз айының аяғы мен қыркүйек айының орта тұсына дейін атқарылды. Ауыл шаруашылығы аумақтарында итальяндық шегірткенің күбіршелері тасталған жерлердің аумағы мен олардың ошағындағы ересек дарактарды санына тексеру жүргізілді. Жұмыртқа салушы шегірткелердің аналықтары мен олардың топтасқан аумағына әрбір 100 м сайын шамамен 10 см тереңдікте күрекпен күбіршелер таусылғанға дейін жаңа топырақ үлгілер алынды. Алынған топырақтарды майдалап, електен өткізіп, табылған күбіршелер арнайы ыдыстарға салынып, олардың саны есептеледі. Оның ішіндегі 1 шаршы метрдегі 1-ге дейін, 1.1-2-ге дейін, 2.1-5-ке дейін; 5.1-10-ға дейін; 10-нан жоғары түйір сандары мен күбіршіктермен зақымдалу пайызы есептелді. Зиянды шегірткелер жұмыртқа салуға қолайлы ауыл шаруашылығы дақылдары егістігінің айналасы, аралығы мен жол бойы мұқият тексерілді. Итальяндық шегірткелердің табылған күбіршелер жатқан жерлері белгіленіп ауыл шаруашылық жері мен жергілікті жердің карта-сұлбасында белгіленді.

Күзгі күбіршелерді тексеру жұмыстары келесі жылы италиялық шегірткелерді жою шараларын жоспарлауға мүмкіндік береді.

### **Зерттеу нәтижелері және оларды талдау**

Итальяндық шегіртке күбіршелері бойынша көктемгі мониторингтік тексеру жұмыстары 15.04 – 07.05 күндері аралығында жүргізілді. Жоспар бойынша тексерілген көлемі 2,0 мың га.

Күбіршелер табылған жерлерінде итальяндық шегірткелердің жұмыртқаларын зақымдайтын табиғи энтомофагтардың үлкен жинағы байқалды. 15.04 күні Еңбек ауылдық округіндегі мемлекеттік қор жерінен 28 күбірше табыл-

ды және олар 37% аумақты зақымдаған. 30.04 күні Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округі мемлекеттік қор жеріне жүргізілген жұмыста 27 күбірше табылды, жалпы зақымдалуы 40%. Талдысай ауылдық округі мемлекеттік қор жерінен 02.05 күні 27 күбірше табылды, жердің 40 % аумағын зақымдаған. 07.05 күні Құмжарған ауылдық округі мемлекеттік қор жерінен 28 күбірше (37%) және Батпақкөл ауылдық округі мемлекеттік қор жері 27 күбірше (40%) табылды.

Аудан бойынша табылған итальяндық шегіртке 2.1-5-ке дейін күбіршелері 0,33 мың га жерінде байқалды, 1 шаршы метрге орташа есеппен тығыздығы 4-4.8 дана екендігі анықталды. Ауыл шаруашылық жерлерінде 1-ге дейін, 1.1-2-ге дейін, 5.1-10-ға дейін; 10-нан жоғары түйір сандары мен күбіршіктермен зақымдалу байқалмады (1-кесте).

Табылған күбіршелер зертханаға әкелінді. Зертхана жағдайында итальяндық шегіртке күбіршелерінің ішіндегі жұмыртқалары қаралды. Күбіршенің ішіндегі жұмыртқаларының саны 27-28 дана. Көктемгі зерттеу жұмыстары бойынша итальяндық шегіртке күбіршелерімен зақымдануы 37-40%. Көктемгі мониторингтік тексеру жұмыстары кезеңінде табылған күбіршелер лотоктарға салынып, беті топырақпен жабылды. Лотоктарда зертханаға әкелінген күбіршелер 0°C температурадағы тоназытқышқа сақтауға қойылды.

Итальяндық шегіртке дернәсілдері бойынша көктемгі-жазғы мониторингтік тексеру 13.05-28.06 күндері аралығында жоспар бойынша көлемі 100.0 мың га тексеріс жұмыстары жүргізілді (2-кесте).

Итальяндық шегіртке дернәсілдерінің пайда болуы 30 мамыр күні Еңбек ауылдық округінің мемлекеттік қор жерінде байқалды. 21 маусым күні Құмжарған ауылдық округінің мемлекеттік қор жерінде итальяндық шегіртке дернәсілдері бойынша тексеру жұмыстары жүргізіліп, нәтижесінде италия шегіртке қанаттану кезеңінде байқалды. Аудан бойынша италиялық шегіртке дернәсілдерінің 1 м<sup>2</sup> саны 5 дейін болған таралуы 0.06 мың га жерінде байқалды. 1 шаршы метрге шаққанда дернәсілдерінің тығыздығы 3-4 дана құрады. Өндеуге болжанған жер көлемі 6.7%. 10 дейін және 10-нан жоғары болған дернәсілдер болмады. Сондықтан, зерттелген жерлерде өңделуге жататын жер көлемі анықталмады.

Итальяндық шегірткенің шағылысуы мен жұмыртқа салу бойынша жазғы жүйелі бақылау жұмыстары 05.07-16.08 күндері аралығында жүргізілді (3-кесте).

**1-кесте** – Италияндық шегіртке күбіршіктерінің аудан аймағында көктемде таралуы

№	Ауыл шаруашылық құрылымдары және тағы басқалары	Тексеру мерзімі		Тексерілгені		Қоныстануы (мың га)						Күбіршікт. жұмыртқа саны	Күбіршікт. зақымдал. %-ы
		бас-талды	аяқ-талуы	жоспарланды	нақты	барлығы	оның ішінде 1 м <sup>2</sup> түйір саны						
							1-ге дейін	1,1-2	2,1-5	5,1-10	10-нан жоғары		
<b>1. Ақкемер ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	23.04	23.04	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	--	-
2	«Умит» Ш/Қ	18.04	18.04	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	18.04	23.04	0,3	0,3	0	-	-	-	-	-	-	-
<b>2. Еңбек ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	15.04	15.04	0,3	0,3	0,05	--	--	0,05	--	--	28	37%
2	«Байқар» Ш/Қ	22.04	22.04	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	15.04	22.04	0,4	0,4	0,05	-	-	0,05	-	-	28	37%
<b>3. Жұрын ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	30.04	30.04	0,3	0,4	0	--	--	--	--	--	--	-
2	«Береке-Ж» Ш/Қ	-	-	0,1	--	-	--	--	--	--	--	--	-
	Барлығы:	30.04	30.04	0,4	0,4	0	-	-	-	-	-	-	-
<b>4. Құмжарған ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	07.05	07.05	0,3	0,3	0,1	--	--	0,1	--	-	28	37%
	Барлығы:	07.05	07.05	0,3	0,3	0,1	-	-	0,1	-	-	28	37%
<b>5. Батпақкөл ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	07.05	07.05	0,2	0,2	0,08	--	-	0,08	--	--	27	40%
	Барлығы:	07.05	07.05	0,2	0,2	0,08	-	-	0,08	-	-	27	40%
<b>6. Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	30.04	30.04	0,1	0,1	0,05	--	--	0,05	--	--	27	40%
2	«Орқаш-А» ЖШС	19.04	19.04	0,1	0,1	0	--	--		--	--	--	-
	Барлығы:	19.04	30.04	0,2	0,2	0,05	-	-	0,05	-	-	27	40%
<b>7. Талдысай ауылдық округі</b>													
1	Мемлекеттік қор жері	02.05	02.05	0,2	0,2	0,05	--	--	0,05	-	--	27	40%
	Барлығы:	02.05	02.05	0,2	0,2	0,05	-	-	0,05	-	-	27	40%
	2019 жыл жиынтығы:	15.04	07.05	2,0	2,0	0,33	--	--	0,33	--	--	27-28	37-40%
	2018 жыл болғаны	11.04	10.05	2,0	2,0	0,6	-	-	0,3	0,3	-	32-41	15-20%

2-кесте – Италияндық шегіртке дернәсілдерінің жазғытұрғы қоныстануы

№	Ауыл шаруашылық құрылымдары және тағы басқалары	Тексеру мерзімі		Тексерілгені		Қоныстануы (мың га)				Өңделуге жататын жер көлемі	2019 ж. өңдеу көл. болжамы
		басталды	аяқталды	жоспарланды	нақты	барлығы	оның ішінде 1 м <sup>2</sup> түйір саны				
							5 дейін	10 дейін	10 жоғары		
1. Ақкемер ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	16.05	05.06	13,0	13,0	0	-	-	-	-	-
2	«Умит» Ш/Қ	12.06	12.06	1,0	1,0	0	-	-	-	-	-
	Барлығы:	16.05	12.06	14,0	14,0	0	-	-	-	-	-
2. Еңбек ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	17.05	13.06	15,0	15,0	0,01	0,01	-	-	-	0,08
2	«Байқар» Ш/Қ	10.06	13.06	2,0	2,0	0	-	-	-	-	-
	Барлығы:	17.05	13.06	17,0	17,0	0,01	0,01	-	-	-	0,08
3. Жұрын ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	23.05	27.06	12,0	13,0	0	-	-	-	-	-
2	«Береке-Ж» Ш/Қ			1,0			-	-	-	-	-
	Барлығы:	23.05	27.06	13,0	13,0	0	-	-	-	-	-
4. Құмжарған ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	16.05	21.06	17,0	17,1	0,05	0,05	-	-	-	1,6
	Барлығы:	16.05	21.06	17,0	17,1	0,05	0,05	-	-	-	1,6
5. Батпақкөл ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	17.05	28.06	13,0	13,0	0	-	-	-	-	0,24
	Барлығы:	17.05	28.06	13,0	13,0	0	-	-	-	-	0,24
6. Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	20.05	20.06	13,0	13,0	0	-	-	-	-	0,08
2	«Орқаш-А» ЖШС	26.06	26.06	2,0	2,0	0	-	-	-	-	-
	Барлығы:	20.05	26.06	15,0	15,0	0	-	-	-	-	0,08
7. Талдысай ауылдық округі											
1	Мемлекеттік қор жер	13.05	28.06	11,0	10,9	0	-	-	-	-	0,32
	Барлығы:	13.05	28.06	11,0	10,9	0	-	-	-	-	0,32
	2019 жыл жиынтығы:	13.05	28.06	100	100	0,06	0,06	-	-	-	2,32
	2018 жыл болғаны	18.05	03.07	100	100	10,0	3,3	3,0	3,7	6,7	6,7

3-кесте – Италияндық шегірткенің шағылысуы мен жұмыртқа салу кезіндегі қоныстануы

№	Ауыл шаруашылық құрылымдары және тағы басқалары	Тексеру мерзімі		Тексерілгені		Қоныстануы (мың га)			
		басталды	аяқталды	жоспарланды	нақты	барлығы	оның ішінде 1 м <sup>2</sup> шегірткелер саны		
							5 дейін	10 дейін	10 жоғары
1. Ақкемер ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	12.07	26.07	10,0	10,0	0	-	-	-
2	«УМИТ» Ш/Қ	10.07	10.07	1,0	1,0	0	-	-	-
	Барлығы:	10.07	26.07	11,0	11,0	0	-	-	-

№	Ауыл шаруашылық құрылымдары және тағы басқалары	Тексеру мерзімі		Тексерілгені		Қоныстануы (мың га)			
		басталды	аяқталды	жоспарланды	нақты	барлығы	оның ішінде 1 м <sup>2</sup> шегірткелер саны		
							5 дейін	10 дейін	10 жоғары
2. Еңбек ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	05.07	30.07	14,0	14,0	0	-	-	-
2	«БАЙҚАР» Ш/Қ	15.07	25.07	2,0	2,0	0	-	-	-
	Барлығы:	05.07	30.07	16,0	16,0	0	-	-	-
3. Жұрын ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	24.07	08.08	11,0	12,0	0	-	-	-
2	«Береке-Ж» Ш/Қ	-	-	1,0	-		-	-	-
	Барлығы:	24.07	08.08	12,0	12,0	0	-	-	-
4. Құмжарған ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	06.08	15.08	16,0	16,0	0	-	-	-
	Барлығы:	06.08	15.08	16,0	16,0	0	-	-	-
5. Батпаккөл ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	06.08	16.08	12,0	12,0	0	-	-	-
	Барлығы:	06.08	16.08	12,0	12,0	0	-	-	-
6. Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	09.07	08.08	11,0	11,0	0	-	-	-
2	«ОРҚАШ-А» ЖШС	12.07	12.07	1,0	1,0	0	-	-	-
	Барлығы:	09.07	08.08	12,0	12,0	0	-	-	-
7. Талдысай ауылдық округі									
1	Мемлекеттік қор жер	01.08	12.08	11,0	11,0	0	-	-	-
	Барлығы:	01.08	12.08	11,0	11,0	0	-	-	-
	2019 жыл жиынтығы:	05.07	16.08	90,0	90,0	0	-	-	-
	2018 жыл болғаны	10.07	27.08	85,0	85,0	4,8	2,8	2,0	2,0

Жоспар бойынша тексерілген көлемі 4,8 мың га. Мұғалжар ауданы бойынша итальяндық шегіртке ересектердің ұшып қоныстануы мүлдем байқалмады. Ал, 2018 жылы 1 м<sup>2</sup> шегірткелер саны 5-ке дейін 2,8, 10-ға дейін 2 және 10-нан жоғары 2 болған.

Итальяндық шегіртке күзгі күбіршелері бойынша мониторингтік тексеру жұмыстары 22.08 – 11.09 күндері аралығында жүргізілді. Ауыл шаруашылық жерлерінде 1 м<sup>2</sup> саны 1-ге дейін, 1.1-2-ге дейін, 2.1-5-ке дейін; 5.1-10-ға дейін; 10-нан жоғары түйір сандары мен күбіршіктермен зақымдалу байқалмады. Жүргізілген бақылау нәтижесі бойынша итальяндық шегіртке популяциясы анықталмауына байланысты 2020 жылы мемлекеттік қор және ауыл шаруашылық жерлеріне химиялық өңдеу болжамы аздау сатысымен есептеліп, жоспарланған өңдеу жұмыстары жүргізілмеді.

Мұғалжар ауданы бойынша итальяндық шегіртке күбіршелері анықталмады. Жалпы жыл бойынша күбіршіктермен зақымдалуы 25-35%. Италияндық прус Ақтөбе облысының территориясына үйірімен ұшып келу арқылы қоныстанады. Зиянды шегіртке Ақтөбе облысы жағдайында ұзақ мерзімді динамикасы мен көбеюі туралы зерттелген жұмыстарды талдау зиянкестің жаппай көбеюі 2 жылдан 5 жылға дейін және санның өсуі 2-3 жылға дейін созылатыны белгілі болды [19]. Санының көбеюі шегірткенің жақын аудандар мен облыстардан, тіпті елдерден ұшып келуінен байланысты болғанмен, тек уақытша өсіру аймағы болып табылады [20]. Облыстың орталығында орналасқан Мұғалжар ауданы итальяндық шегірткенің көбеюіне ыңғайлы жиі қоныстанатын аудандарының бірі. Бұл жергілікті ландшафттарда бұл түрге қолайлы жағдай жасалғандығымен түсіндіріледі.

4-кесте – Италияндық шегіртке күбіршіктерінің аудан аймағында күзгі таралуы

№	Ауыл шаруашылық құрылымдары және тағы басқалары	Тексеру мерзімі		Тексерілгені		Қоныстануы (мың га)					Күбіршікт. жұмыртқа саны	Күбіршікт. зақымдал. %-ы	
		бас-талды	аяқ-талды	жоспарланды	нақты	барлығы	оның ішінде 1 м <sup>2</sup> түйір саны						
							1-ге дей.	1,1-2	2,1-5	5,1-10			10-нан жоғары
1. Ақкемер ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	22.08	22.08	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
2	«Умит» Ш/Қ	22.08	22.08	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	22.08	22.08	0,3	0,3	0	-	-	-	-	-	-	-
2. Еңбек ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	02.09	02.09	0,3	0,3	0	-	-	-	-	-	-	-
2	«Байқар» Ш/Қ	02.09	02.09	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	02.09	02.09	0,4	0,4	0	-	-	-	-	-	-	-
3. Жұрын ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	23.08	23.08	0,3	0,4	0	-	-	-	-	-	-	-
2	«Береке-Ж» Ш/Қ	-	-	0,1	-	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	03.08	23.08	0,4	0,4	0	-	-	-	-	-	-	-
4. Құмжарған ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	06.09	06.09	0,3	0,3	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	06.09	06.09	0,3	0,3	0	-	-	-	-	-	-	-
5. Батпақкөл ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	06.09	06.09	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	06.09	06.09	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
6. Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	11.09	11.09	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
2	«Орқаш-А» ЖШС	11.09	11.09	0,1	0,1	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	11.09	11.09	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
7. Талдысай ауылдық округі													
1	Мемлекеттік қор жері	09.09	09.09	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
	Барлығы:	09.09	09.09	0,2	0,2	0	-	-	-	-	-	-	-
	2019 жыл жиынтығы:	22.08	11.09	2,0	2,0	0	-	-	-	-	-	-	-
	2018 жыл болғаны	03.09	10.09	2,0	2,0	0,33	-	-	0,33	-	-	30-32	25-35%

Біздің бақылауларымызға сәйкес, 2019 жыл жиынтығы бойынша Ақтөбе облысы Мұғалжар ауданының ауыл шаруашылық жерлерінде көктемгі зерттеулерде күбіршіктермен зақымдалуы 37-40 %. Бұл көрсеткіш 2018 жылы, 15-

20 % болатын. Еңбек ауылдық округіндегі, Қ. Жұбанов атындағы ауылдық округіндегі, Талдысай ауылдық округіндегі, Құмжарған ауылдық округіндегі және Батпақкөл ауылдық округтеріндегі мемлекеттік қор жерлерінде

итальяндық шегірткелерінің күбіршелерінің бар екендігі анықталды. Яғни, Мұғалжар аудандарында шегіртке личинкаларының саны 2018 жылмен салыстырғанда 2 есе өскені байқалады. Дегенмен, жазғы және күзгі зерттеу жұмысы аталған ауыл шаруашылық жерлерінде итальяндық шегірткенің ересектердің ұшып қоныстануы мен күбіршіктермен зақымдалуы анықталмағанын көрсетті.

Ауданының ауа-райының қолайлы болмауымен және химиялық әдіспен өңделудің нәтижелі болуымен байланысты болуы мүмкін. Ауа-райының қолайсыздығынан тіршілігін жойған

болуы керек. Өйткені, + 40 °С-тан жоғары температурада шегіртке белсенділігін жоғалтады, қоректенуін тоқтатып, салқын жерлерді іздеп, қолайлы орындарға қоныс аударады [21]. 5-кестеде берілген ауданның ауа-райы мәліметтеріне сәйкес, Мұғалжар ауданындағы жазғы және күзгі зерттеу жүргізілген маусым-тамыз айындағы орташа температура +37+35°С және бұл айлардағы ауа ылғалдылығының 1107-1486. Жоғарыда аталғандай, + 40°С-қа жақын температурада шегіртке күбіршектері өмір сүруге қабілетсіз, ал зиянкес шегірткелердің дернәсілдері мен ересектерінің тіршілігіне қолайсыз.

**5-кесте** – Ақтөбе облысы Мұғалжар ауданының айлар бойынша ауа-райы мәліметтері

Айы	Ауаның t° C		Орташа тәуліктік, t° C	Желдің жылдамдығы, м/сек	Ауаның ылғалдылығы, %
	ең жоғарғы	ең төменгі			
Қазан	+23,0	-7,0	+7,8	4,2	1973
Қараша	+6,0	-16,0	-3,2	3,8	2107
Желтоқсан	0	-25,0	-10,6	3,2	2424
Қаңтар	+1,0	-28,0	-10,9	3,7	2701
Ақпан	-2,0	-21,0	-10,7	3,5	2343
Наурыз	+11,0	-16,0	-0,3	4,2	2520
Сәуір	+21,0	-5,0	+2,7	4,0	1838
Мамыр	+32,0	+1,0	+17,5	4,4	1129
Маусым	+37,0	+7,0	+21,0	4,0	1107
Шілде	+39,0	+14,0	+25,6	4,4	1046
Тамыз	+35,0	+7,0	+19,6	4,1	1486
Қыркүйек	+29,0	+4,0	+10,8	4,8	1124

Ауа-райы жағдайлары жас дернәсілдердің өсуі мен дамуына, ересектердің қоныс аударуына әсер ететіндігін растайды. Бүгінде шегіртке мәселесін ұзақ мерзімді шешуді қамтамасыз ететін профилактикалық тәсіл – кең аумақтарда жаппай химиялық өңдеу [22]. Жазғы және күзгі зерттеулерді зиянкес шегірткенің кездеспеуі ауданның ауыл шаруашылықтарда жоспары және тиянақты жүргізілген өңдеу жұмыстарының оң нәтижесі де болуы мүмкін. Бұл жағдайда аудан аумағында итальяндық шегірткелердің нақты қоныстанған орындары, жерлер көлемі, қоныстанған аумақтардағы дернәсілдер саны мен үйінділердің мөлшері және олардың ұшу бағыты ескерілді.

Десек те, шегірткемен күресудің қазіргі халықаралық тәжірибесі алдын алу стратегиясы, бұл әдіс өңдеу жұмыстарына қарағанда

тиімді, үнемді және экологиялық таза [23]. Ауданның ауылшаруашылық жерлерінде зиянкес шегірткелердің көбеюіне химиялық өңдеу кезінде кеткен кемшіліктер әсер етеді. Кеткен кемшіліктердің әсерінен 2012 жылы Ақтөбе облысының аудандарында италиялық шегіртке дернәсілдерінің саны 20-40 есе өсті [24]. Мұндай жағдайда шегірткені ұрық деңгейінде (күбіршек және дернәсіл) өңдейтін болсақ өсуі күрт төмендеп, ересектерінің пайда болуына жол берілмейді. Осылайша, алдағы жылдардағы болжамдар шегіртке популяциясының санының былтырғы 2018 жылмен салыстырғанда төмендегенін көрсетті, бірақ ауданның ауыл шаруашылығы дақылдары егілген округтерде зиянкес шегірткенің көбею қаупі сақталады [25]. Өйткені, зиянкес шегіртке санының ауытқуы ауа-райының және климаттық факторлардың мезгіл-



мезгіл өзгеруіне байланысты болатыны белгілі. Сондықтан, жыл сайын ауданның қолайлы өмір сүру жағдайлары егін алқаптарында зиянды итальяндық шегірткелер санының көбеюіне тікелей әсер етуін ауа-райы құбылыстарды ескеру қажеттілігін көрсетеді [26-29].

### Қорытынды

- Ақтөбе облысы Мұғалжар ауданында 2018–2019 жылдары итальяндық шегірткеге көктемгі, көктемгі-жазғы, жазғы, күзгі жүйелі есеп жүргізу және жергілікті популяциясының жылдық динамикасын анықтау жұмыстары бойынша ауыл шаруашылық аумақтарында қазіргі

уақытта итальяндық шегіртке (*Calliptamus italicus* L.) санының депрессиясы байқалды.

- Мұғалжар ауданының ауыл шаруашылық жерлерінде 2019 жылы жүргізілген мониторингтік және жүйелі бақылау нәтижесі бойынша итальяндық шегіртке популяциясы байқалмауына байланысты 2020 жылы мемлекеттік қор және ауыл шаруашылық жерлеріне химиялық өңдеу болжамы аздау сатысымен есептеліп, өңдеу жұмыстары жүргізілмеді.

- Аудан аумағында итальяндық шегірткенің алдын алу және көршілес аудандардан зиянкес шегірткелердің ұшу ықтималдылығы ескеріліп, Мұғалжар ауданы бойынша жүйелі мониторингтік бақылау жүргізілу жоспарланды.

### Әдебиеттер

- 1 Cressman K. Climate change and locusts in the WANA Region // Climate change and food security in West Asia and North Africa. – 2013a. – P. 131-143.
- 2 Sergeev M. G. La sécheresse et les schémas de distribution des criquets en Asie centrale et septentrionale // Secheresse. – 1996. – Vol. 2. – P. 129–132.
- 3 Voss F., Dreiser U. Mapping of desert locust habitats using remote sensing techniques // New Strategies in Locust Control. – 1997. – P. 37–45.
- 4 Lipa J.J., Hernandez-Crespo P., Santiago-Alvarez C. Gregarines (Eugregarinida: Apicomplexa) in natural populations of *Dociostaurus maroccanus*, *Calliptamus italicus* and other Orthoptera // Acta Protozoologica. – 1996. – Vol. 35, – No 1. – P. 49–59.
- 5 Maetal C.J. Monitoring East Asian migratory locust plagues using remote sensing data and field investigations // Int. J. of Remote Sensing, –2005. –Vol. 26 (3). – P. 629–634.
- 6 Cressman K. Role of remote sensing in desert locust early warning, Journal of applied remote sensings. –2013b. –Vol. 7. – P. 10-15.
- 7 Krall S., Herok C. Economics of Desert locust control // New Strategies in Locust Control. – 1997. – P. 401–413.
- 8 Нурмуратов Т.Н., Ажбенов В.К., Камбулин В.Е., Чильдебаев М., Комиссарова И.А., Жумағалиева Г. Саранчовые вредители сельскохозяйственных растений Казахстана и рекомендации по ограничению их численности. – Алматы: «Asia Publishing», 2000. – 56 с.
- 9 Abduwali, I. & Gulman, H. Introduction of the occurrence and management of locusts in the Republic of Kazakhstan // Xinjiang-muye, – 2013. – Vol. 6. – P. 62–63.
- 10 Ажбенов В. К. Массовые размножения и миграции саранчовых в Казахстане // Степной бюллетень. – 2000а. – № 6. – С. 16–20.
- 11 Жасанов А.К. Характеристика фаз динамики популяции итальянского пруса на северо-западе Казахстана // Защита и карантин растений в Казахстане. – 2003. – № 2. – С. 11–13.
- 12 Лачининский А.В., Гаппаров Ф.А., Камбулин В.Е., Локвуд Д.А., Сергеева М.Г., Черняховский М.Е. Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий. – Ларам: Международная Ассоциация прикладной Акридологии и Университет Вайоминга, 2002. – 387 с.
- 13 Ыскак С., Агибаев А.Ж., Таранов Б.Т., Калмакбаев Т.Ж., Камбулин В.Е. Распространение стадных саранчовых и защитные мероприятия против них в Казахстане // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия аграрных наук. – 2012. – №5. – С. 11-20.
- 14 Sivanpillai R., Latchininsky A. V., Peveling R., Pankov V. I. Utility of the IRS-AWiFS data to map the potential Italian locust (*Calliptamus italicus*) habitats in northeast Kazakhstan // Proceedings of the 2009 ASPRS Annual Conference. Baltimore, MD. 2009.
- 15 Stolyarov M. V. Massenvermehrungen von *Calliptamus italicus* L. in Südrussland im zwanzigsten Jahrhundert // Articulata. – 2000. – Vol. 15(1). – P. 99–108.
- 16 Елеусизов К. Ж., Жасанов А. К. О массовом размножении итальянского пруса на территории Актюбинской области в 1997–2001 гг. Использование достижений аграрной науки в стабилизации сельскохозяйственного производства Казахстана. – Актөбе: ДГП Актюбинский ЦНТИ, 2003. – С. 140–146.
- 17 Түменбаева Н.Т., Момбаева Б.К. Жалпы энтомология: оқу құралы. – Тараз: Тараз университеті, 2018. – 95 б.
- 18 Түменбаева Н.Т., Бектұрғанов Б.Б., Момбаева Б.К. Ауылшаруашылық өсімдіктерінің зиянкестері және аурулары: оқу құралы. – Тараз: Тараз университеті, 2018. – 143 б.
- 19 Жасанов А. К. О некоторых закономерностях размножения итальянского пруса (*Calliptamus italicus*) в Актюбинской области // Защита и карантин растений в Казахстане. – 2001. – № 1. – С. 27–28.

- 20 Жасанов А. К. Принципы районирования территорий по степени размножения итальянского пруса на примере Актюбинской области // Актуальные проблемы защиты растений в Казахстане. – 2002. – С. 170–178.
- 21 Кушалиева Ш.А. К биологии азиатской или перелетной саранчи (*Locusta migratoria* L.) // Наука, образование, инновации. Всероссийская научно-практическая конференция, Грозный. – 2011. – С. 153-155.
- 22 Ажбенев В.К. Массовые размножения саранчовых в Казахстане и проблемы защиты сельскохозяйственных угодий // Вестник науки Акмолинского аграрного университета им. С. Сейфуллина. – 2001b. – № 3. – С. 24–31.
- 23 Magor J. I., Lecoq M., Hunter D. M. Preventive control and Desert Locust plagues // Crop Prot. – 2008. – Vol. 27. – P. 1527–1533.
- 24 Сергеев М. Г., Чильдебаев М. К., Ванькова И. А., Гаппаров Ф. А., Камбулин В. Е., Кока-нова Э., Лачининский А. В., Пшеницына Л. Б., Темрешев И. И., Черняховский М. Е., Соболев Н. Н., Молодцов В. В. Итальянская саранча [*Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758)]: морфология, распространение, экология, управление популяциями. – Рим: Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН, 2016. – 330 с.
- 25 Wilps H., Levchenko V., Vernigor A. Field trials with imidacloprid (Confidor) on the Italian locust *Calliptamus italicus* in Kazakhstan. // J. Appl. Entomol. – 2002. – Vol. 126, – P. 436– 443.
- 26 Louveaux A., Peyrelongue J.-Y., Gillon Y. 1988. Analyse des facteurs de pullulation du croquet italien (*Calliptamus italicus* L.) en poitou-charentes. C. r. Acad. agr. – N 8.- P. 91–102.
- 27 Rembold H. Controlling locusts with plant chemicals // New Trends in Locust Control. Rossdor: TZ-Verl.-Ges. – 1994. – P. 41–49.
- 28 Urquijo C. J. L., Calamita J. C., Blandford S., Thomas M. B. Control de *Dociostaurus maroccanus* y *Calliptamus italicus* (Orthoptera: Acrididae) mediante aplicaciones en campo de *Metarhizium anisopliae* var *acridum* // Bol. San. Veg. Plagas. – 2002. – Vol. 28. – P. 185–192.
- 29 Azhbenov V.K. Plants protection in the Republic of Kazakhstan: modern condition and perspectives // SCIENCE REVIEW. S.Seifullin Kazakh Agro Technical University , Astana. – 2007c. – № 1 (1). – P. 5-14.

#### References

- 1 Abduwali, I., Gulman, H. “Introduction of the occurrence and management of locusts in the Republic of Kazakhstan.” *Xinjiang-muye* 6 (2013): 62–63.
- 2 Azhbenov, V. K. “Massovyye razmnozheniya i migratsii saranchovykh v Kazakhstane [Mass breeding and locust migration in Kazakhstan].” *Steppe Bulletin*, (2000a): 16-20.
- 3 Azhbenov, V.K. “Massovyye razmnozheniya saranchovykh v Kazakhstane i problemy zashchity selskokhozyaystvennykh ugodiy [Mass breeding of locusts in Kazakhstan and the problems of agricultural land protection].” *Vestnik nauki Akmolinskogo agrarnogo universiteta im. S. Seyfullina*, (2001b): 24–31.
- 4 Azhbenov, V.K. “Plants protection in the Republic of Kazakhstan: modern condition and perspectives.” *SCIENCE REVIEW. S.Seifullin Kazakh Agro Technical University , Astana.*, (2007c): 5-14.
- 5 Cressman, K. “Climate change and locusts in the WANA Region.” In *Climate change and food security in West Asia and North Africa.*, (2013a): 131-143.
- 6 Cressman, K. “Role of remote sensing in desert locust early warning.” *Journal of applied remote sensings* 7 (2013b): 10-15.
- 7 Eleusizov, K.Zh., Zhasanov, A.K. “O massovom razmnozhenii italiyanskogo prusa na territorii Aktyubinskoy oblasti v 1997–2001 gg. Ispolzovaniye dostizheniy agrarnoy nauki v stabilizatsii selskokhozyaystvennogo proizvodstva Kazakhstana [On the mass reproduction of Italian prus in the Aktobe region in 1997–2001. Using the achievements of agricultural science in stabilizing the agricultural production of Kazakhstan].” *Aktobe: DGP Aktobe Central Scientific Research Institute*, (2003): 140–146.
- 8 Krall, S., Herok, C. “Economics of Desert locust control.” *New Strategies in Locust Control*. Basel: Birkhäuser Verlag. (1997): 401–413.
- 9 Kushaliyeva, Sh.A. “K biologii aziatskoy ili pereletnoy saranchi (*Locusta migratoria* L.) [To the biology of Asian or migratory locusts (*Locusta migratoria* L.)].” *Nauka. obrazovaniye. innovatsii. Vserossiyskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya. Groznyy*, (2011): 153-155.
- 10 Lachininskiy, A.V., Gapparov, F.A., Kambulin, V.E., Lokvud, D.A. Sergeyeva, M.G., Chernyakhovskiy, M.E. “Saranchovyye Kazakhstana, Sredney Azii i sopredelnykh territoriy [Locusts of Kazakhstan, Central Asia and adjacent territories].” *Larami: Mezhdunarodnaya Assotsiatsiya prikladnoy Akridologii i Universitet Vayominga*, (2002): 387.
- 11 Lipa, J. J., Hernandez-Crespo, P., Santiago-Alvarez, C. “Gregarines (Eugregarinida: Apicomplexa) in natural populations of *Dociostaurus maroccanus*, *Calliptamus italicus* and other Orthoptera.” *Acta Protozoologica*. 35, no. 1 (1996): 49–59.
- 12 Louveaux, A., Peyrelongue, J.-Y., Gillon, Y. “Analyse des facteurs de pullulation du croquet italien (*Calliptamus italicus* L.) en poitou-charentes.” *C. r. Acad. agr. Fr*. 74, no. 8 (1988): 91–102.
- 13 Magor, J.I., Lecoq, M., Hunter, D.M. “Preventive control and Desert Locust plagues.” *Crop Prot*. 27, no 12 (2008): 1527–1533.
- 14 Maetal, C.J. “Monitoring East Asian migratory locust plagues using remote sensing data and field investigations.” *Int. J. of Remote Sensing* 26 (3), (2005): 629–634.
- 15 Nurmuratov, T.N. Azhbenov, V.K., Kambulin, V.E., Childebayev, M., Komissarova, I.A., Zhmagaliyeva, G. “Saranchovyye vrediteli selskokhozyaystvennykh rasteniy Kazakhstana i rekomendatsii po ogranicheniyu ikh chislennosti [Locust pests of agricultural plants in Kazakhstan and recommendations for limiting their numbers].” *Almaty: «Asia Publishing»*, (2000): 56.
- 16 Rembold, H. “Controlling locusts with plant chemicals.” *New Trends in Locust Control*. Rossdor: TZ-Verl., (1994): 41–49.

- 17 Sergeev, M. G. “La sécheresse et les schémas de distribution des criquets en Asie centrale et septentrionale.” *Secheresse*, (1996): 129–132.
- 18 Sergeev, M. G., Childebayev, M. K., Vankova, I. A., Gapparov, F. A., Kambulin, V. E., Koka-nova, E., Lachininskiy, A. V., Pshenitsyna, L. B., Temreshev, I. I., Chernyakhovskiy, M. E., Sobolev, N. N., Molodtsov, V.V. “Italianskaya sarancha [*Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758)]: morfologiya. rasprostraneniye. ekologiya. upravleniye populyatsiyami [Italian locust [*Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758)]: morphology, distribution, ecology, population management].” Rim: Prodovolstvennaya i selskokhozyaystvennaya organizatsiya OON, (2016): 330.
- 19 Sivanpillai, R., Latchininsky, A. V., Peveling, R., Pankov, V. (2009) I. Utility of the IRS-AWiFS data to map the potential Italian locust (*Calliptamus italicus*) habitats in northeast Kazakhstan., *Proceedings of the 2009 ASPRS Annual Conference*. Baltimore, MD.
- 20 Stolyarov, M. V. “Massenvermehrungen von *Calliptamus italicus* L. in Südrussland im zwanzigsten Jahrhundert.” *Articulata*. (2000): 99–108.
- 21 Tumenbayeva, N.T., Mombayeva, B.K. “Zhalpy entomologiya [General entomology].” *Textbook*.- Taraz: Taraz University, (2018), 95p.
- 22 Tumenbayeva, N.T., Bekturganov, B.B., Mombayeva, B.K.” *Auylsharuashylyk osimdikterinin ziyankesteri zhane aurulary [Pests and diseases of agricultural crops ]*.” *Textbook*.- Taraz: Taraz University, – (2018) -143 p.
- 23 Urquijo, C. J. L., Calamita, J. C., Blandford, S., Thomas, M. B. “Control de *Dociostaurus maroccanus* y *Calliptamus italicus* (Orthoptera: Acrididae) mediante aplicaciones en campode *Metarhizium anisopliae* var *acidum*.” *Bol. San. Veg. Plagas.*, (2002): 185–192.
- 24 Voss, F., Dreiser, U. “Mapping of desert locust habitats using remote sensing techniques.” *New Strategies in Locust Control*. Basel et al.: Birkhäuser Verlag., (1997): 37–45.
- 25 Yskak, S., Agibayev, A.Zh., Taranov, B.T., Kalmakbayev, T.Zh. Kambulin, V.E. “Rasprostraneniye stadnykh saranchovykh i zashchitnyye meropriyatiya protiv nikh v Kazakhstane [Distribution of herd locusts and protective measures against them in Kazakhstan].” *National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series agricultural sciences*, (2012): 11-20.
- 26 Zhasanov, A.K. “Kharakteristika faz dinamiki populyatsii italianskogo prusa na severo-zapade Kazakhstana [Characterization of the phases of the dynamics of the Italian prus population in northwestern Kazakhstan].” *Plant Protection and Quarantine in Kazakhstan*, (2003a): 11-13.
- 27 Zhasanov, A.K. “O nekotorykh zakonomernostyakh razmnozheniya italianskogo prusa (*Calliptamus italicus*) v Aktyubinskoy oblasti [On some patterns of propagation of the Italian prus (*Calliptamus italicus*) in the Aktobe region].” *Plant Protection and Quarantine in Kazakhstan*, (2001b): 27-28.
- 28 Zhasanov, A.K. “Printsipy rayonirovaniya territoriy po stepeni razmnozheniya italianskogo prusa na primere Aktyubinskoy oblasti [Principles of zoning of territories according to the degree of propagation of the Italian prus on the example of the Aktobe region].” *Actual problems of plant protection in Kazakhstan*, (2002c): 170–178.
- 29 Wilps, H., Levchenko, V., Vernigor, A. “Field trials with imidacloprid (Confidor) on the Italian locust *Calliptamus italicus* in Kazakhstan.” *J. Appl. Entomol* 1. 126, no 7–8 (2002): 436– 443.

**А.А. Сумбембаев\*, А.Н. Данилова**

«Алтайский ботанический сад» КН МОН РК, Казахстан, г. Риддер,

\*e-mail: aydars@list.ru

## **ЦЕНОФЛОРА ПОПУЛЯЦИЙ *DACTYLORHIZA INCARNATA* (L.) СОО КАЛБИНСКОГО ХРЕБТА**

В статье приведен эколого-ценотический анализ флоры популяций *Dactylorhiza incarnata* на Калбинском хребте, установлен экологический оптимум вида. На основе полевых обследований выделены 4 основные популяции, зафиксировано 13 местонахождений. Ценофлора популяций *D. incarnata* на Калбинском хребте насчитывает 117 видов, принадлежащих к 30 семействам и 80 родам. Характерными видами-маркерами являются *Thalictrum simplex* L., *Salix viminalis* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Sanguisorba officinalis* L., *Geranium pratense* L., *Festuca pratensis* Huds. Ценоэкоотипы занимают замшелые скальники, щебнистые берега ручьев и горных рек. Флоропопуляционное сходство обследованных популяций варьирует в пределах 9–27%. В экологическом отношении во всех популяциях основу фитоценозов составляют мезофиты – 67–75%, в меньшей доле представлены мезогигрофиты – 16–27% и ксеромезофиты – 6–16%. Преобладающей жизненной формой является травянистая растительность – 81–95%, незначительна доля кустарников и деревьев – 5–19%. Экологический оптимум *D. incarnata* приходится на юго-восточные склоны с рассеянным освещением и умеренным ветровым воздействием. Оптимальными условиями обладают василистниково-кровохлебково-лабазниковые, разнотравно-осоковые фитоценозы: чрезмерно увлажненные луга и опушки леса с низкой плотностью и конкуренцией. Самоподдержание и размножение вида осуществляется преимущественно семенами, реже вегетативным делением пальчатого корня. При анализе возрастного состава популяций, динамичности и стабильности ценопопуляций установлено, что индекс восстановления находится в пределах оптимума. Господствующее положение занимают особи виргинильной и предгенеративной стадии роста.

**Ключевые слова:** *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo, флористический состав, Калбинский хребет, эколого-ценотический анализ, состояние вида.

A.A. Sumbembayev\*, A.N. Danilova

Altai Botanical Garden of the Science Committee, Kazakhstan, Ridder,

\*e-mail: aydars@list.ru

## **Coenoflora of *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo populations of the Kalba ridge**

The article provides an ecological-coenotic analysis of the flora of the *Dactylorhiza incarnata* populations on the Kalba ridge. The ecological optimum of the species is established. On the basis of field surveys, 4 main populations were identified, 13 localities were recorded. The coenoflora of *D. incarnata* populations on the Kalba ridge includes 117 species belonging to 30 families and 80 genera. The typical marker species are *Thalictrum simplex* L., *Salix viminalis* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Sanguisorba officinalis* L., *Geranium pratense* L., *Festuca pratensis* Huds. The conoecotypes are occupied by mossy rocks, gravelly banks of streams and mountain rivers. The floral similarity of the studied populations varies within 9–27%. Ecologically, in all populations, the basis of phytocenoses is formed by mesophytes – 67–75%, in a smaller proportion are mesohygrophytes – 16–27% and xeromesophytes – 6–16%. The predominant life form is herbaceous vegetation – 81–95%, the share of shrubs and trees is insignificant – 5–19%. The ecological optimum of *D. incarnata* falls on the southeastern slopes with diffuse illumination and moderate wind impact. The *Thalictrum-Sanguisorba-Filipendula* and herbal-*Carex* phytocenoses have optimal conditions: overly humid meadows and forest edges with low density and competition. Self-maintenance and reproduction of the species is carried out mainly by seeds, less often by vegetative division of the finger root. When analyzing the age composition of populations, the dynamics and stability of coenopopulations, it was found that the recovery index is within the optimum. The dominant position is occupied by individuals of the virginal and pregenerative stages of growth.

**Key words:** *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo, floristic composition, Kalba ridge, ecological-coenotic analysis, state of the species.

А.А. Сумбембаев\*, А.Н. Данилова

Ғылым комитетінің Алтай ботаникалық бағы, Қазақстан, Риддер қ.

\*e-mail: aydars@list.ru

### Қалба жотасының *dactylorhiza incarnata* (L.) Soo популяцияларының ценофлорасы

Мақалада Қалба жотасындағы *Dactylorhiza incarnata* популяцияларының флорасына экологиялық-ценодикалық талдау берілген және түрдің экологиялық оңтайлы жағдайы белгіленді. Далалық зерттеулер негізінде 4 негізгі популяция анықталды, 13 орналасу аймағы тіркелді. Қалба жотасындағы *D. incarnata* популяцияларының ценофлорасы 30 тұқымдасқа және 80 туысқа жататын 117 түрді қамтиды. Типтік маркер түрлері *Thalictrum simplex* L., *Salix viminalis* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Sanguisorba officinalis* L., *Geranium pratense* L., *Festuca pratensis* Huds. болып табылады. Ценоэкотиптері мүк басқан тау тастарын, ұсақ тасты тау өзендерінің және бұлақтардың жағалауын алып жатыр. Зерттелген популяциялардың флоропопуляциялық ұқсастығы 9-27% аралығын қамтиды. Экологиялық тұрғыдан алғанда, барлық популяцияларда фитоценоздардың негізін мезофиттер – 67-75% құрайды, ал аз бөлігінде мезогигрофиттер – 16-27% және ксеромесофиттер – 6-16% құрайды. Тіршіліктің басым формасы шөпті өсімдіктер – 81-95%, бұталар мен ағаштардың үлесі шамамен – 5-19% құрайды. *D. incarnata* экологиялық оңтайлы ортасы болып шашыраңқы жарығы бар және шамалы жел әсерлі оңтүстік-шығыс тау беткейлері болып табылады. Фитоценоздардың оңтайлы жағдай насыбайгүл-оттық-шабындық, шөпті-шөгіндер: тығыздығы және бәсекелестігі төмен ылғалды шалғындар мен орман жиектері болып табылады. Түрдің өзін-өзі қалыпта сақтауы және көбеюі негізі тұқымдармен іс жүзеге асады, сирек саусақты тамырының вегетативті бөлінуімен болуы мүмкін. Популяциялардың жастық құрамын, ценопопуляциялардың динамикасын және тұрақтылығын талдау кезінде, қалпына келу индексі оңтайлы шегінде екендігі анықталды. Виргинальды және предгенеративті кезеңдеріндегі жеке дарактары басым орын алып жатыр.

**Түйін сөздер:** *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo, флористикалық құрамы, Қалба жотасы, экологиялық-ценодикалық талдау, түр жағдайы.

#### Введение

*Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. – редкий, лугово-болотный [1, 2], сциогелиофитный [3], гигрофитный [4], клубне-лопастной многолетник с евроазиатским (палеоарктическим) ареалом. Энтомофил [5], облигатный микосимбиотроф [2], довольно крупное растение, с крепким полым стеблем, многочисленными, крупными, ланцетными листьями и плотным густым соцветием, содержащим иногда до 40 цветков [6]. Весьма вариабелен в признаках и изменчив даже в пределах одной популяции [7, 8]. Может образовывать как плотные скопления, так и отмечаться единичными особями [9]. Предпочитает карбонатные почвы [10]. Часто встречается в сообществах с другими видами орхидных [11]. Может расти как в ненарушенных растительных сообществах, так и в местах с высокой рекреационной нагрузкой [10]. Популяции с участием вида, как правило, очень динамичны [2]. Приурочен к равнинным местообитаниям, в горы высоко не поднимается [6]. Хорошо переносит сенокосение.

Морфологически близок к *D. salina*, от которого отличается широким шпорцем (до 5-6 мм шириной), ланцетными листьями с башлычком на конце [12]. Является викарным видом для *D.*

*umbrosa* в горных отрогах Казахстанского Алтая.

Степень редкости: с низким опасением (least concern – LC) [13].

Относится к клубневым растениям с удлиненным побегом [14]. Тубероид и корни существуют около полутора лет. Вид имеет большой научный интерес как редкое, декоративное и лекарственное растение [15].

Район обследования – Калбинский хребет (Калба). Хребет массивен, протягивается в западно-северо-западном направлении на 200–230 км при максимальной ширине 50–70 км. Высоты постепенно возрастают с запада на восток от 400 до 1606 м и вновь снижаются к долине прорыва Иртыша до 400 м. Рельеф Калбы низкогорный, преимущественно крутосклонный, местами низкогорно-долинный. Наиболее широко развитый тип рельефа – низкогорный, имеющий по периферии характер мелкосопочника или так называемых горстов. Доминирующий элемент рельефа – широкие вогнутые впадины: Сибинская, Таинтинская, Кокпектинская и др. Климат резко континентальный. По особенностям водного режима Калбинский хребет относится к холмисто-мелкосопочному району [16]. Почвы, как правило, светло-каштановые, составляющие основной фон, на котором проявляется характерный для

региона вертикальный спектр почв: темно-каштановые, степные черноземы и лесостепные, серые лесные почвы, горно-таежные кислоземы и горно-луговые [17].

Одной из основных характеристик вида является возрастной спектр его популяций [18]. Стабильное равномерное соотношение количества всех фаз онтогенеза в популяции является неотъемлемым признаком жизнненности вида. Согласно градации Р.В. Камелина [19] *D. incarnata* относится к редким видам с обширным ареалом, но произрастающим в малом количестве и подверженным уничтожению при сведении их специфических мест произрастания. Несмотря на бедность видового разнообразия орхидей Казахстана, все они имеют высокий научный интерес и остаются слабо изученными, особенно в горных районах [20]. Специальных исследований по изучению популяций *D. incarnata*, эколого-ценотических характеристик сообществ и флористического состава этих популяций на территории Калбинского хребта не проводилось. Исследования современного состояния популяций *D. incarnata* и ценотической структуры сообществ необходимы для установления флоропопуляционного сходства сообществ, экологического оптимума вида в условиях Калбинского хребта, возрастного состава и самоподдержания популяций.

Целью данного исследования является эколого-ценотическое обследование популяций *D. incarnata* на Калбинском хребте, определение жизнненности и экологической пластичности вида в обследованных сообществах на основе сходства и различия фитоценозов.

Для изучения современного состояния ценопопуляций *D. incarnata* и установления экологического оптимума основными задачами являлись: определение структуры онтогенетического состава вида и степени возобновления, установление флористического состава сообществ, анализ способности вида существовать в разных типах сообществ, определение основных лимитирующих факторов.

### Материалы и методы

Обследование территории проведено маршрутно-рекогносцировочным методом с охватом всей территории Калбинского хребта. Проведено 4 экспедиционных обследования в разные периоды вегетации вида (рис. 1 и 2). Маршрут экспедиционных обследований и местоположение обследованных популяций на территории Казахстанского Алтая приведены на карте (рис. 3). Исследования проводились в 2018–2020 гг. в Кокпектинском, Уланском, Жарминском административных районах. В географическом отношении маршруты экспедиций проходили по территории Калбинского Алтая, по восточной лесной (горы Коктау, Сибинская впадина) и западной степной частях (Каражальские горы, хребет Сарыжол) Калбинского хребта с охватом долин рек Таинты, Лайла, Иртыш, Урунхай, Кокпекты, Шар, Сибинских озер.

Картирование местонахождений проведено в программе Qgis 3.12.0-București.

Категория редкости и статус вида указаны в соответствии с The IUCN Red List of Threatened Species [21].



Рисунок 1 – *Dactylorhiza incarnata*



Рисунок 2 – Популяция *D. incarnata* в период вегетации



Статистическая обработка результатов проведена по методике Г. Н. Зайцева [22]. Флоропопуляционное сходство исследованных популяций вычислено по формуле Жаккара [23]. Структура семейств указана по си-

стеме А.Л. Тахтаджяна [24]. Виды и рода в семействах расположены по алфавиту. Латинские названия даны по *WCSP* (Royal Botanic Gardens, Kew) [25] и электронного ресурса Plant list [26].

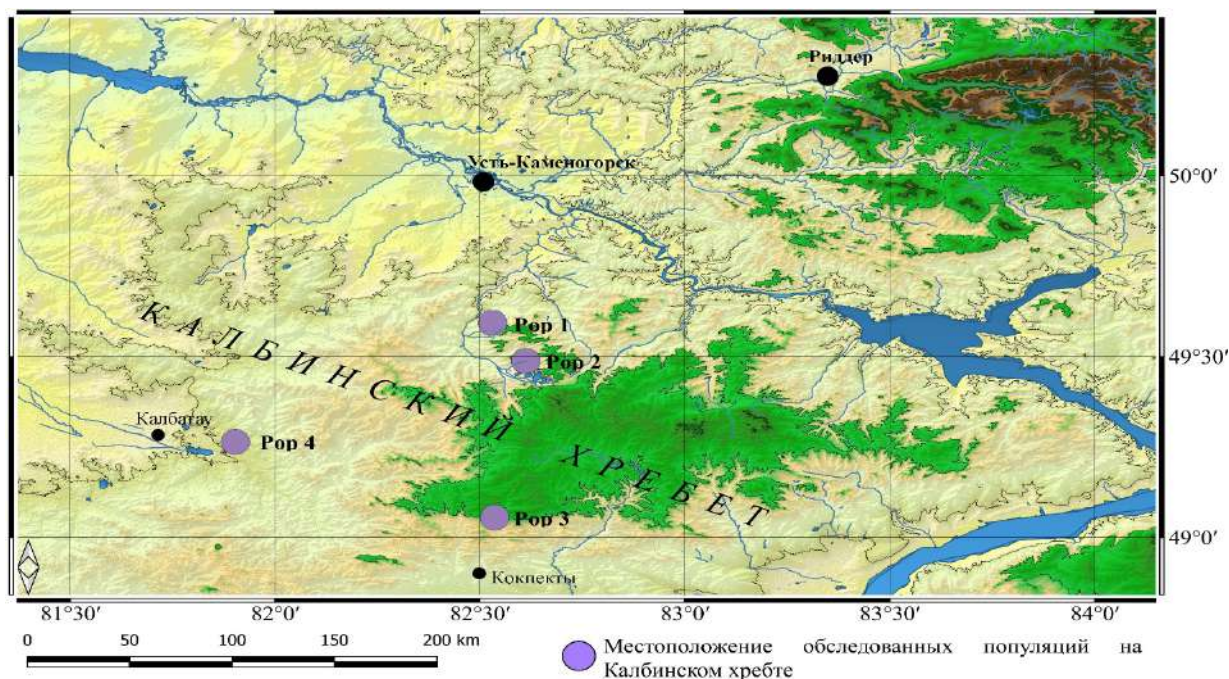


Рисунок 3 – Обнаруженные популяции *D. incarnata* на территории Калбинского хребта

### Результаты и их обсуждение

Несмотря на пространственную изоляцию популяций, *D. incarnata* произрастает в схожих экологических условиях. Необходимость сочетания оптимального количества требуемых факторов негативно сказывается на способности к дальнейшему расселению. *D. incarnata* является одним из тех видов, критически переносящих антропогенное влияние, в том числе сенокосение до фазы созревания семян, вытаптывание скотом, вырывание на букеты. Популяции вида требуют не только комплексного изучения, но и разработки охранных мер защиты мест произрастания.

В результате экспедиционных обследований были выделены 4 основные популяции, названные по географической принадлежности местонахождений: Коктауская, Сибинская, Кокпектинская, Калбатауская.

Зафиксировано 13 местонахождений (табл. 1) в разных эколого-фитоценологических условиях (среднесухие луга, заливные разнотравные луга, сырые, чрезмерно увлажненные луга, остепнен-

ные умеренно увлажненные разнотравно-осоково-злаковые луга, замшелые россыпи камней среди древесно-кустарниковой растительности), на полянах под пологом *Salix viminalis* L.

**Коктауская популяция** (pop 1) *D. incarnata* размещена в восточной части Калбинского хребта, в южной и юго-западной части древних гор Коктау на высоте 600-800 м над ур. м. Популяция занимает спорадичные локусы в горно-луговых мезо-гигрофитных растительных сообществах. Особи вида встречаются редко и спорадично в виде небольших групп на площади от 50 до 900 м<sup>2</sup>. Основными типичными местами произрастания являются замшелые камни в долине горных ручьев или рек, реже щебнистые или болотистые берега. Участки имеют полное или рассеянное освещение, реже полное затенение. Ветровое воздействие сильное в течение всего года, часто ветра порывистые с юго-восточными или северо-западными направлениями. Уровень годовых осадков в пределах 600-800 мм, которые приходятся на весенний и осенний период. Растительный покров разнообразен в видовом отношении



и сложен 88 видами. Наиболее многочисленными являются семейства: Poaceae – 17%, Astera-seae – 9%, Rosaceae – 11%, Ranunculaceae – 11%, Fabaceae – 5%. По характеру жизненных форм на долю травянистых видов приходится 87% и на долю древесно-кустарниковых видов приходит-

ся 13% в сложении фитоценоза. В экологическом отношении в коктауской популяции преобладают мезогигрофитные виды, которые составляют 75% флористического состава, незначительную часть составляют мезогигрофиты – 16% и ксеромезофиты – 9%.

Таблица 1 – Характеристика местонахождений ценопопуляций *D. Incarnata*

№	Название ценопопуляции и ее локалитет	Эколого-фитоценотическая приуроченность	Площадь ценопопуляции, м <sup>2</sup>	Количество молодых предгенеративных особей на 10 м <sup>2</sup>	Показатели жизнестойкости ценопопуляции
Коктауская популяция					
1	Ценопопуляция мятно-осокового ( <i>Carex macroura</i> Meinsh., <i>Mentha asiatica</i> Boriss.) фитоценоза. Восточная часть Калбинского хребта, г. Коктау. Урочище Шат. 49°35'45" с.ш., 82°31'07" в.д., 634 м. над ур. м.	Подножье северо-западного склона, долина горного ручья, сильно поросшая древесно-кустарниковыми видами. Камни, покрытые тонким слоем мха	150	2	17 генеративных особей. Молодая, слабо прогрессирующая, способная к самоподдержанию семенным и вегетативным путем, стабильно удерживающая свою территорию
2	Ценопопуляция василистниково-кровохлебково-лабазникового ( <i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim., <i>Sanguisorba officinalis</i> L., <i>Thalictrum minus</i> L.) фитоценоза. Восточная часть Калбинского хребта. Верхний предел юго-восточного склона гор Коктау. Урочище Талды. 49°30'01" с.ш., 82°37'01" в.д., 859 м. над ур. м.	Луговая поляна, со всех сторон закрытая соснами ( <i>Pinus sylvestris</i> L.). Небольшими группами, на обильно увлажненных оголенных местах	100	6	50 генеративных особей. Нормального типа, с левосторонним спектром, активно прогрессирующая, размножающаяся как семенным, так и вегетативным способом
3	Ценопопуляция мятликово-камышевого ( <i>Scirpus sylvaticus</i> L., <i>Poa palustris</i> L.) фитоценоза. Восточная часть Калбинского хребта. Горы Коктау. 49°30'25" с.ш., 82°37'25" в.д., 862 м. над ур. м.	Поляна в ложбине с избыточным увлажнением на обильно-гумусированных горно-луговых черноземах	50	1	10 генеративных особей. Неполноценная, правосторонняя, стареющая, со слабым семенным размножением, испытывает сильную конкуренцию от <i>Scirpus sylvaticus</i> L. за покрытую площадь, что является основной причиной слабого семенного размножения
4	Ценопопуляция разнотравно-злакового ( <i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Poa angustifolia</i> L., <i>Fragaria virides</i> (Duch.) Weston, <i>Ranunculus acris</i> L., <i>Galium verum</i> L.) фитоценоза. Горы Коктау. Верховья урочища Талды. 49°30'09" с.ш., 82°38'02" в.д., 869 м. над ур. м.	Гряды на закрытых матрацевидных гранитоидах, хорошо защищенная с юго-запада от ветра и инсоляции ( <i>Pinus sylvestris</i> L., <i>Populus laurifolia</i> Ledeb.)	150	3	16 генеративных особей. Ослабленная, увядающая, но с хорошим возобновлением. Не имеет возможности заселения новых территорий, испытывает конкуренцию других видов. При снижении антропогенной нагрузки возможно восстановление численности
5	Ценопопуляция хвоево-лабазникового ( <i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim., <i>Equisetum arvense</i> L.) фитоценоза. Восточная часть Калбинского хребта, урочище Царская долина, по берегам реки Таинтинки. Левый берег р. Таинтинки. 49°21'35" с.ш., 83°05'42" в.д., 977 м. над ур. м.	Разнотравно-злаковое сообщество. Узкая полоса в прибрежной части юго-западного склона	50	2	6 генеративных особей. Ценопопуляция угнетена и ослаблена. Особи плохо вегетируют и плодоносят. Преобладает семенное размножение, молодые особи сконцентрированы у материнского растения

№	Название ценопопуляции и ее локалитет	Эколого-фитоцено- тическая приуроченность	Площадь ценопо- пуляции, м <sup>2</sup>	Количество молодых предгенера- тивных осо- бей на 10 м <sup>2</sup>	Показатели жизнненности ценопопуляции
6	<i>Ценопопуляция осоково-щучко- вого (Deschampsia cespitosa (L.) Beauv., Carex humilis Leyss.) фитоценоза.</i> Восточная часть Калбинского хребта, на горном перевале Умыш. 49°16'50" с.ш., 83°07'16" в.д., 1230 м. над ур. м.	В долине ручья в соста- ве разнотравных лугов. Ложбина с протекающим ключом	200	4	120 генеративных особей. Полночленная, прогресси- рующая, с левосторонним спектром. Возобновление про- исходит как семенным, так и вегетативным способом
Сибинская популяция					
7	<i>Ценопопуляция вейниково-осоко- вого (Carex disticha Huds, Cala- magrostis epigeous (L.) Roth.) фитоценоза.</i> Юго-западная периферия Сибинской впадины. Притока Талдыбулак, в районе озера Торткара. 49°25'55" с.ш., 82°36'55" в.д., 782 м. над ур. м.	Заливные луга, Вид раз- мещен небольшими груп- пами по долине ручья	100	5	40 генеративных особей. Слабо прогрессирующая, с правосторонним спектром, стареющая, но с удовлетворительным возобновлением. Несмотря на сильное угнетение и конкуренцию в фитоценозе, популяция стремится к захвату новых территорий
8	<i>Ценопопуляция осоково- кровохлебкового (Sanguisorba officinalis L., Carex disticha Jacq.) фитоценоза.</i> Калбинский хребет. Сибинская впадина. Юго- западная окраина. 49°25'52" с.ш., 82°36'49" в.д., 791 м. над ур. м.	Открытые заливные раз- нотравные луга	250	7	110 генеративных особей. Полночленная, с левосторонним спектром, с достаточной степенью возобновления. Несмотря на сложные условия, вид активно прогрессирует
9	<i>Ценопопуляция луково-щучко- вого (Deschampsia cespitosa (L.) Beauv., Allium schoenoprasum L.) фитоценоза.</i> Восточная часть Калбинского хребта, в юго-вос- точной части Сибинской впади- ны. 49°25'55" с.ш., 82°36'39" в.д., 782 м. над ур. м.	Сырые луга и чрезмер- но-увлажненные опушки леса	600	4	218 генеративных особей. Состояние ценопопуляции в луково-щучковых фитоценозах хорошее, вид стабильно занимает новые территории. Экологическая амплитуда вида низкая. Возобновление стабильное, высокое
10	<i>Ценопопуляция осоково-хвоще- вого (Equisetum pratense Ehrh., Carex juncella (Fries) Th. Fries) фитоценоза.</i> Горы Коктау, юго- восточные предгорья. 49°26'39" с.ш., 82°43'19" в.д., 904 м. над ур. м. Правый берег проточного ключа	Разнотравное сообщество на увлажненном пологом склоне, с юго-запада за- щищена зарослями <i>Betula reznitzenkoana</i> (Litv.) Schischk., <i>Salix pentandra</i> L., <i>S. rosmarinifolia</i> L., <i>Salix bebbiana</i> Sarg., <i>Salix pyrolifolia</i> Ledeb.	80	5	30 генеративных особей. Ценопопуляции осоково- хвощевых фитоценозов характеризуются как нормального типа, полночленные, прогрессирующие, с высоким возобновлением
Кокпектинская популяция					
11.	<i>Ценопопуляция разнотравно- злакового (Medicago falcata L., Thalictrum simplex L., Dactylis glomerata L., Festuca pratensis Huds.) фитоценоза.</i> Юго-западное предгорье юго- восточной окраины Калбинского хребта, в северных отрогах Каражальских гор. Берега долины реки Кокпектинка. 48°50'13" с.ш., 82°12'08" в.д., 620 м над ур. м.	Долина реки, под поло- гом <i>Salix viminalis</i> L., <i>S. tenuijulis</i> Ledeb., <i>Betula humilis</i> Schrank.	100	5	45 генеративных особей. Ценоэкотип в разнотравно- злаковых фитоценозах активно прогрессирует, с левосторонним спектром, полночленный, с высоким семенным возобновлением. Способен к захвату новых территорий вниз по руслу реки.

№	Название ценопопуляции и ее локалитет	Эколого-фитоценотическая приуроченность	Площадь ценопопуляции, м <sup>2</sup>	Количество молодых предгенеративных особей на 10 м <sup>2</sup>	Показатели жизнестойкости ценопопуляции
12	<i>Ценопопуляция разнотравно-осокового (Carex juncella (Fries) Th. Fries, Equisetum pratense Ehrh., Filipendula ulmaria (L.) Maxim., Festuca pratensis Huds.)</i> фитоценоза. Восточная часть Калбинского хребта, юго-западные предгорья. 48°50'14" с.ш., 82°12'07" в.д., 630 м. над ур. м.	Разнотравно-злаковые луга, местами защищенные пологом кустарника и <i>Betula humilis</i> Schrank.	50	5	17 генеративных особей. Устойчивые, медленно развивающиеся сообщества с высокой плотностью и конкуренцией. Ценоэкотип размножается преимущественно семенным путем, и имеет высокое возобновление
Калбатауская популяция					
13	<i>Ценопопуляция осоково-хвощевого (Equisetum pratense Ehrh, Carex juncella (Fries) Th. Fries)</i> фитоценоза. 49°11'25" с.ш. Юго-западные отроги восточной части Калбинского нагорья, на подножье небольшого хребта Сарыжал. Отрывочные фитоценозы в долине реки Шар, в окрестностях села Калбатау. 81°57'21" в.д., 525 м. над ур. м.	Разнотравные сырые луга, широкой полосой по юго-западной границе древесно-кустарникового массива	650	1	415 генеративных особей. Полночленная, развитая, с удовлетворительным возобновлением. Несмотря на экстремальность условий, ценоэкотип занимает новые территории и имеет высокую конкуренцию в травостое

**Сибинская популяция** (пор 2) расположена в восточной части Калбинского хребта, в юго-западной части Сибинской впадины. При отсутствии конкуренции занимает обширные поляны в понижениях. Популяция расселена чаще небольшими, но плотными группами, часто образует клональные семьи. Территория полностью освещена и лишь по периферии существует рассеянное освещение под пологом кустарника. Ветровое воздействие постоянное, преобладают юго-восточные и юго-западные ветры. Основными местами произрастания вида являются заливные разнотравные луга, чрезмерно увлажненные опушки леса, сырые поляны. Растительный покров сложен 48 видами. Основной жизненной формой являются травянистые растения – 81%, на долю древесно-кустарниковых видов приходится 19%. Самыми многочисленными в видовом отношении являются семейства: Poaceae – 19%, Salicaceae – 13%, Ranunculaceae – 8%, Asteraceae – 6%, Rosaceae – 6%, Apiaceae – 6%, Cyperaceae – 5%, Fabaceae – 5%. По экологической приуроченности доминирующую часть составляют мезофитные виды – 67% и мезогигрофитные виды – 27%, меньшую часть ксеромезофитные виды – 6%. По флористическому составу и доминирующим видам в пределах Сибинской популяции было выделено 4 основных типа фитоценозов.

**Кокпектинская популяция** (пор 3) расположена в юго-западном предгорье юго-восточной окраины Калбинского хребта, в северных отрогах Каражалских гор. Занимает оба берега долины реки Кокпектинка. Координаты местонахождения: 48°50' с.ш., 82°12' в.д., 600 м. над ур. м.

Типичными местами обитания вида являются замшелые, обильно гумусированные берега реки, поросшие гряды камней в русле реки, заболоченные низины на опушках ивняка и березняка, и под пологом разреженного кустарника.

Условия обитания вида близки к оптимальным. Почвенный слой местами хорошо выражен. Уровень инсоляции довольно низкий, недостаточный, обычно рассеянный, реже полное затенение.

Растительный покров с высокой плотностью и высотой травостоя, но беден в видовом отношении – 19 видов. Основу фитоценоза составляют травянистые виды – 84%, в меньшей степени древесные виды и кустарники – 16%. В видовом отношении самыми многочисленными являются семейства: Fabaceae – 26%, Poaceae – 21%, Salicaceae – 10%. По экологической приуроченности преобладают мезофиты – 68%, на долю мезогигрофитов и ксеромезофитов приходится по 16%. В пределах Кокпектинской попу-

ляции выделено два основных типа фитоценоза различных по основным доминирующим видам и экологическим условиям мест произрастания.

**Калбатауская популяция** (пор 4) расположена в юго-западных отрогах восточной части Калбинского нагорья, на подножье небольшого хребта Сарыжал. Вид занимает отрывочные фитоценозы в долине реки Шар, в окрестностях села Калбатау.

Условия обитания вида не соответствуют оптимальным, местами становятся экстремальными. На состоянии особей негативно сказывается повышенная инсоляция, ветровое воздействие и антропогенное влияние. Основными местами обитания вида являются заливные луга, сырые понижения, реже опушки ивняка. Вид развивается при полном освещении в плотных низкотравных сообществах.

Растительный покров беден в видовом отношении – 18 видов. Основной жизненной формой является травянистая растительность – 95%, на долю кустарников и деревьев приходится 5%. По количеству видов самыми многочисленными

являются семейства: Poaceae – 17%, Fabaceae – 17%, Rosaceae – 11%, Ranunculaceae – 11%. По экологической приуроченности преобладают мезофиты – 67%, менее значительны мезогигрофиты – 22% и ксеромезофиты – 11%. Калбатауская популяция представлена одним основным типом фитоценозов, сходных по видовому составу и экологическим условиям.

Ценофлора *D. incarnata* на Калбинском хребте насчитывает 117 видов (табл. 2), принадлежащих к 30 семействам и 80 родам. Характерными видами-маркерами являются *Thalictrum simplex* L., *Salix viminalis* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Sanguisorba officinalis* L., *Geranium pratense* L., *Festuca pratensis* Huds.

Флоропопуляционное сходство обследованных популяций варьирует в пределах 9-27%. Сходство видового состава составляет: коктауской с сибинской – 27%, коктауской с кокпектинской – 13%, кокпектинской с калбатауской – 9%, сибинской с кокпектинской – 17%, сибинской с калбатауской – 20%.

Таблица 2 – Состав ценофлоры *D. Incarnata*

Виды	Коктауская популяция	Сибинская популяция	Кокпектинская популяция	Калбатауская популяция
Equisetaceae Michx. ex DC				
<i>Equisetum arvense</i> L.	+	+	-	-
<i>Equisetum pratense</i> Ehrh.	-	+	+	+
Pinaceae Lindley,				
<i>Pinus sylvestris</i> L.	+	-	-	-
Ranunculaceae Juss.				
<i>Aconitum septentrionale</i> Koelle	+	-	-	-
<i>A. volubile</i> Pall. ex Koelle	+	-	-	-
<i>Alchemilla xanthochlora</i> Rothm.	+	-	-	-
<i>Ranunculus acris</i> L.	+	+	-	+
<i>Ranunculus kassubicus</i> L.	+	-	-	-
<i>Thalictrum flavum</i> L.	+	-	-	-
<i>Thalictrum minus</i> L.	+	+	-	-
<i>Thalictrum simplex</i> L.	+	+	+	+
<i>Trollius altaicus</i> C.A. Mey	+	+	-	-
<i>Clematis integrifolia</i> L.	+	-	-	-
Betulaceae Gray				
<i>Betula humilis</i> Schrank	-	-	+	-
<i>Betula pendula</i> Roth	+	+	-	-
<i>Betula reznitzenkoana</i> (Litv.) Schischk.	-	+	-	-
Caryophyllaceae Juss.				
<i>Stellaria graminea</i> L.	-	+	-	-
<i>Cerastium arvense</i> L.	+	-	-	-
<i>Cerastium davuricum</i> Fisch. ex Spreng.	+	-	-	-

Виды	Коктауская популяция	Сибирская популяция	Кокпектинская популяция	Калбатауская популяция
Polygonaceae Juss.				
<i>Rumex acetosa</i> L.	+	-	-	-
Hypericaceae Juss.				
<i>Hypericum perforatum</i> L.	+	-	+	-
Salicaceae Mirb.				
<i>Populus laurifolia</i> Ledeb.	+	-	-	-
<i>Salix alba</i> L.	+	-	-	-
<i>Salix bebbiana</i> Sarg.	-	+	-	-
<i>Salix cinirea</i> L.	-	+	-	-
<i>Salix pentandra</i> L.	+	+	-	-
<i>Salix pyrolifolia</i> Ledeb.	-	+	-	-
<i>Salix rosmarinifolia</i> L.	-	+	-	-
<i>Salix tenuijulis</i> Ledeb.	-	-	+	-
<i>Salix viminalis</i> L.	+	+	+	+
Violaceae Batsch.				
<i>Viola disjuncta</i> W. Beck.	+	-	-	-
Cannabaceae Martinov				
<i>Humulus lupulus</i> L.	+	-	-	-
Urticaceae Juss.				
<i>Urtica dioica</i> L.	+	-	-	-
Crassulaceae J.St.-Hil.				
<i>Sedum hybridum</i> L.	+	-	-	-
Rosaceae Juss.				
<i>Crataegus chlorocarpa</i> Lenne & C. Koch.	+	-	-	-
<i>Crataegus sanguinea</i> Pall	+	-	-	-
<i>Fragaria viridis</i> (Duch.) Weston	+	-	-	-
<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.	+	+	+	+
<i>Geum rivale</i> L.	+	-	-	-
<i>Padus avium</i> Mill	+	-	-	-
<i>Potentilla anserina</i> L.	-	+	-	-
<i>Potentilla bifurca</i> L.	+	-	-	-
<i>Rubus idaeus</i> L.	+	-	-	-
<i>Rubus saxatilis</i> L.	+	-	-	-
<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	+	+	-	+
Fabaceae Lindl.				
<i>Amoria hybrida</i> (L.) C. Presl.	+	-	+	-
<i>Amoria repens</i> (L.) C. Presl.	+	+	-	-
<i>Lathyrus pratensis</i> L.	-	-	-	+
<i>Lupinaster pentaphyllus</i> Moench	+	+	-	-
<i>Medicago falcata</i> L.	+	-	+	-
<i>Melilotus albus</i> Medik.	-	-	+	-
<i>Glycerhiza glabra</i> L.	-	-	+	+
<i>Trifolium pratense</i> L.	-	-	-	+
<i>Vicia sepium</i> L.	+	+	+	-
Geraniaceae Juss.				
<i>Geranium collinum</i> Steph.	+	-	+	+
<i>Geranium pratense</i> L.	+	-	-	-

Виды	Коктауская популяция	Сибирская популяция	Кокпектинская популяция	Калбатауская популяция
Adoxaceae E.Мey.				
<i>Viburnum opulus</i> L.	+	-	-	-
Apiaceae Lindl.				
<i>Angelica archangelica</i> L.	+	-	-	-
<i>Angelica decurrens</i> (Ledeb.) B. Fedtsch.	+	+	-	-
<i>Antriscus sylvestris</i>	+	+	-	-
<i>Bupleurum longifolium</i> L. subsp. <i>aureum</i> (Fisch. ex Hoffm.) Soo	+	-	-	-
<i>Carum carvi</i> L.	-	+	-	-
Asteraceae Bercht. & J. Presl.				
<i>Arctium lappa</i> L.	+	-	-	-
<i>Artemisia austriaca</i> Jacq.	+	-	-	-
<i>Artemisia tanacetifolia</i> L.	-	+	-	-
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	+	-	-	-
<i>Cacalia hastata</i> L.	+	-	-	-
<i>Cirsium incanum</i> (S.G. Gmel.) Fisch.	+	+	-	-
<i>Inula helenium</i> L.	-	-	-	+
<i>Ligularia glauca</i> (L.) O. Hoffm.	+	-	-	-
<i>Serratula coronata</i> L.	+	-	-	-
<i>Sonchus arvensis</i> L.	-	+	-	-
<i>Tephrosieris integrifolia</i> (L.) Holub.	+	-	-	-
Rubiaceae Juss.				
<i>Galium boreale</i> L.	+	-	-	-
<i>Galium verum</i> L.	+	-	-	-
Convolvulaceae Juss.				
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	-	-	+	-
Boraginaceae Juss.				
<i>Myosotis palustris</i> (L.) L.	+	-	-	-
<i>Pulmonaria mollis</i> Wulf. Ex Hornem.	+	-	-	-
Scrophulariaceae Juss.				
<i>Rhinanthus songaricus</i> (Sterneck) B. Fedtsch.	-	-	-	+
Plantaginaceae Juss.				
<i>Plantago media</i> L.	+	+	-	+
<i>Veronica anagalis-aquatica</i> L.	+	-	-	-
<i>Veronica longifolia</i> L.	+	+	-	-
Lamiaceae Martinov				
<i>Lamium album</i> L.	+	-	-	-
<i>Mentha asiatica</i> Boriss.	+	+	-	-
<i>Phlomis tuberosa</i> (L.) Moench.	+	-	-	-
Melanthiaceae Batsch ex Borkh.				
<i>Veratrum lobelianum</i> Bernh.	+	+	-	-
Orchidaceae Juss.				
<i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) Soo	+	+	+	+
<i>D. maculata</i> (L.) Soo	-	+	-	-
Alliaceae J.G. Agardh				
<i>Allium hymenorchizum</i> Ledeb.	-	+	-	-
<i>Allium nutans</i> L.	+	-	-	-
<i>Allium schoenoprasum</i> L.	-	+	-	-

Виды	Коктауская популяция	Сибирская популяция	Кокпектинская популяция	Калбатауская популяция
Juncaceae Juss.				
<i>Juncus compressus</i> Jacq.	+	+	-	-
Cyperaceae Juss.				
<i>Carex disticha</i> Huds.	+	+	-	-
<i>Carex humilis</i> Leyss.	+	-	-	-
<i>Carex juncella</i> (Fries) Th. Fries	-	+	+	+
<i>Carex macroura</i> Meinsh.,	+	-	-	-
<i>Scirpus silvaticus</i> L.	+	-	-	-
Poaceae Barnhart				
<i>Alopecurus glaucus</i> Less.	-	+	-	-
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	+	+	-	+
<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	+	-	-	-
<i>Calamagrostis epigeios</i> (L.) Roth	+	+	+	-
<i>Dactylis glomerata</i> L.	+	-	+	-
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) Beauv.	+	+	-	-
<i>Eleocharis palustris</i> (L.) Roem. & Schult.	+	+	-	-
<i>Elymus caninus</i> (L.) L.	+	-	-	-
<i>Elymus sibiricus</i> L.	+	-	-	-
<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	+	+	-	-
<i>Festuca altissima</i> All.	+	-	-	-
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	-	+	+	+
<i>Hordeum bogdanii</i> Wilensky	-	-	-	+
<i>Koeleria cristata</i> (L.) Pers.	-	+	-	-
<i>Melica nutans</i> L.	+	-	-	-
<i>Poa angustifolia</i> L.	+	-	-	-
<i>Poa palustris</i> L.	+	+	+	-
<i>Poa pratensis</i> L.	-	+	-	-
<i>Poa remota</i> Forsell.	+	-	-	-
<i>Stipa pennata</i> L.	+	-	-	-

Наличие сорных видов: *Humulus lupulus* L., *Urtica dioica* L., *Arctium lappa* L. подтверждает высокую антропогенную нагрузку на природные фитоценозы.

При сравнении ценофлоры популяций *D. incarnata* со флорой Калбинского хребта (табл. 3) установлено, что семейства Poaceae Barnhart, Ranunculaceae Juss., Rosaceae Juss., Asteraceae Bercht. & J.Presl. различаются в доле участия в формировании видового состава. Это происходит за счет большего числа мезофитных и мезогрофитных видов и низкого числа ксерофитов и петрофитов, свидетельствует о приуроченности вида к разнотравно-злаковым типам сообществ. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена составляет 0,837, т.е. связь прямая и сильная, а

ценофлора популяций *D. incarnata* по спектру 10 ведущих семейств довольно схожа с флорой Калбинского хребта.

Высокий процент доли видов, приходящийся на первые десять семейств, – 72,5%, указывает на высокую степень антропогенной трансформации ценофлоры, в отличие от всей флоры Калбинского хребта (55,52%).

На основе корреляционных зависимостей между флористическим составом популяций и состоянием изучаемого вида установлено, что оптимальными условиями обладают василистниково-кровохлебково-лабазниковые, разнотравно-осоковые фитоценозы: чрезмерно увлажненные луга и опушки леса с низкой плотностью и конкуренцией.

Таблица 3 – Ведущие семейства ценофлоры *Dactylorhiza incarnata* по числу видов

Семейство	Ценофлора популяций <i>D. incarnata</i>		Флора Калбинского хребта
	Число родов, % от общего числа	Число видов, % от общего числа	Число видов, % от общего числа
Ranunculaceae Juss.	6/7,5	10/8,5	52/4,01
Caryophyllaceae Juss.	2/2,5	3/2,5	51/3,94
Salicaceae Mirb.	2/2,5	9/7,7	26/2,01
Rosaceae Juss.	8/10	11/9,4	58/4,47
Fabaceae Lindl.	8/10	9/7,7	95/7,33
Apiaceae Lindl.	4/5	5/4,27	39/3,01
Asteraceae Bercht. & J.Presl.	9/11,25	11/9,4	188/14,51
Lamiaceae Martinov	3/3,75	3/2,5	43/3,32
Cyperaceae Juss.	2/2,5	5/4,27	44/3,39
Poaceae Barnhart	14/17,5	20/17,1	123/9,49
Всего	58/72,5	86/73,34	719/55,52

### Заключение

На основе полевых экспедиционных обследований были выделены 4 основные популяции, зафиксировано 13 местонахождений в разных эколого-фитоценологических условиях. Эколого-биологический анализ подтвердил мезофитный и гигромезофитный характер флоры луговых и долинных местообитаний популяций *D. incarnata*. Ценофлора *D. incarnata* на Калбинском хребте насчитывает 117 видов, принадлежащих к 30 семействам и 80 родам. Характерными видами-маркерами являются *Thalictrum simplex* L., *Salix viminalis* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Sanguisorba officinalis* L., *Geranium pratense* L., *Festuca pratensis* Huds.

В сравнении с флорой Калбинского хребта ценофлора популяций *D. incarnata* состоит большей частью из видов, принадлежащих к семействам Ranunculaceae Juss., Rosaceae Juss., Fabaceae Lindl., Poaceae Barnhart, что свидетельствует о специфичности и оригинальности флористического состава, приуроченности его к разнотравно-злаковым типам сообществ.

При анализе результатов установлено, что все популяции заметно различаются по флористическому составу и условиям произрастания. Популяции разновозрастные, с левосторонним и правосторонним спектрами, самоподдержание семенным путем, изредка вегетативно. Относительно более сложные условия произрастания существуют в мятно-осоковых, разнотравно-злаковых фитоценозах. Ценоэкоотипы занимают замшелые скальники, щебнистые берега ручьев и горных рек и имеют сложности

с развитием молодого подростка. Оптимальными условиями обладают василистниково-крово-хлебково-лабазниковые, разнотравно-осоковые фитоценозы: чрезмерно увлажненные луга и опушки леса с низкой плотностью и конкурентностью. В связи со слабой конкурентной способностью вид поселяется в разных эколого-фитоценологических условиях: увлажненные луга, заливные разнотравные луга, сырые, чрезмерно увлажненные луга, остепненные умеренно увлажненные разнотравно-осоково-злаковые луга, замшелые россыпи камней среди древесно-кустарниковой растительности, на полянах под пологом *Salix viminalis* L.

Флоропопуляционное сходство обследованных популяций варьирует в пределах 9-27%. Сходство видового состава составляет: коктауской с сибинской – 27%, коктауской с кокпектинской – 13%, кокпектинской с калбатауской – 9%, сибинской с кокпектинской – 17%, сибинской с калбатауской – 20%. Результаты сходства фитоценозов также свидетельствуют о высокой экологической пластичности вида, который в итоге способен произрастать в различных типах фитоценозов. В экологическом отношении во всех популяциях основу фитоценозов составляют мезофиты – 67-75%, в меньшей доле представлены мезогигрофиты – 16-27% и ксеромезофиты – 6-16%. Преобладающей жизненной формой является травянистая растительность – 81-95%, незначительна доля кустарников и деревьев – 5-19%. Экологический оптимум вида приходится на юго-восточные склоны с рассеянным освещением и умеренным ветровым воздействием. Самоподдержание и размножение



вида осуществляется преимущественно семенами, реже вегетативным делением пальчатого корня.

При анализе возрастного состава популяций, динамичности и стабильности ценопопуляций установлено, что индекс восстановления находится в пределах оптимума. Основными лимитирующими факторами, существенно ограничивающими расселение вида, являются высокая конкуренция в фитоценозах, антропогенная нагрузка, строгая экологическая приуроченность.

Обследованные популяции требуют охраны и проведения мониторинга за демографической структурой.

### Конфликт интересов

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

### Источник финансирования

Статья подготовлена в рамках проекта АР05133868 «Изучение распространения и современного состояния популяций видов семейства Орхидных Казахского Алтая и их интродукция в Алтайском ботаническом саду» на 2018-2020 гг.

### Литература

- 1 Scmeidt O. Estonia Orchideed. – Tallinn: Varrak, 1996. – 144 p.
- 2 Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (Биология, экология и охрана) // Товарищество научных изданий КМК. – 2014. – 474 с.
- 3 Голубев В.Н. Биологическая флора Крыма. – Ялта, 1996. – 87 с.
- 4 Собко В.Г. Орхидеи Украины. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 190 с.
- 5 Lammi A., Kuitunen M. Deceptive pollination of *Dactylorhiza incarnata*: an experimental test of the magnet species hypothesis // *Oecologia*. 1995. – No. 101. – P. 500-503.
- 6 Мамаев С.А., Князев М.С., Куликов П.В., Филиппов Е.Г. Орхидные Урала: систематика, биология, охрана. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – 124 с.
- 7 Juskiwicz-Swarczyzna B., Endler Z., Slomka W. Secondary expansion of *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo in formerly arable areas in Notheastern Poland // *J. Eur. Orch.* – 2006. – Vol. 38, No. 2. – P. 287-288.
- 8 Fuller F. *Dactylorhiza* und *Orchis*. Die Orchideen Deutschland. Die Neue Brehm-Bucherei. Ed. 2. Nr. 286. Wittenberg Lutherstadt. – 1972. – 127 p.
- 9 Борисова Е.А., Курганов А.А., Мишагина Д.А. Особенности распространения орхидных в Ивановской области // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2014. – №3 (3). – С. 26-29.
- 10 Ефимов П.Г. Орхидные северо-запада Европейской России // Товарищество научных изданий КМК. – 2011. – 211 с.
- 11 Игошева Н.И. Местообитания редких видов Орхидных в восточных предгорьях Среднего Урала // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее. – Горно-Алтайск, 2010. – С. 136-142.
- 12 Аверьянов Л.В. Конспект рода *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski (Orchidaceae), 1// Новости систематики высших растений, Том 25. – Л.: Наука, 1988. – С. 48-67.
- 13 The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T176037A7181293. Downloaded on 04 March 2020.
- 14 Смирнова Е.С. Морфология побеговых систем орхидных. – М.: Наука, 1990. – 208 с.
- 15 Перебора Е.А. Орхидные Северо-Западного Кавказа. – М.: Наука, 2002. – 253 с.
- 16 Егорина А. В., Зинченко Ю. К., Зинченко Е. С. Физическая география Восточного Казахстана. – Усть-Каменогорск: Альфа-Пресс, 2003. – 187 с.
- 17 Котухов Ю.А., Данилова А.Н., Ануфриева О.А. Современное состояние популяций редких и исчезающих растений Восточного Казахстана. – Алматы, 2006. – 177 с.
- 18 Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. – М.: Аргус, 1996. – 207 с.
- 19 Красная книга Алтайского края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений. – Барнаул: ОАО «ИПП Алтай», 2006. – 262 с.
- 20 Вахрамеева М.Г., Денисова Л.В., Никитина С.В., Самсонов С.К. Орхидеи нашей страны – М.: Наука, 1991. – 224 с.
- 21 IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>.
- 22 Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов. – М.: Наука, 1973. – 150 с.
- 23 Jaccard P. Distribution de la flore alpine dans le Bassin des Dranses et dans quelques regions voisines // *Bull. Soc. Vaudoise sci. Natur.* – 1901. – V. 37. Bd. 140. – P. 241-272.
- 24 Takhtajan A.I. Flowering plants. 2 ed. – 2009. – 871 p.
- 25 World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wccsp.science.kew.org/> Retrieved.
- 26 The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).

## References

- 1 Smeidit, O. Estonia Orchideed. Tallinn: Varrak., 1996.
- 2 Vahrameeva, M.G., Varlygina, T.L., Tatarenko, I.V. Orhidnye Rossii (Biologija, jekologija i ohrana) [Orchids of Russia (Biology, ecology and conservation)]. Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK, 2014.
- 3 Golubev, V.N. Biologicheskaja flora Kryma [Biological flora of Crimea]. Jalta, 1996.
- 4 Sobko, V.G. Orhidei Ukrainy [Orchids of Ukraine]. Kiev: Nauk. Dumka, 1989.
- 5 Lammi, A., Kuitunen, M. "Deceptive pollination of *Dactylorhiza incarnata*: an experimental test of the magnet species hypothesis" *Oecologia*. No. 101. (1995): 500-503.
- 6 Mamaev, S.A., Knjazev, M.S., Kulikov, P.V., Filippov, E.G. Orhidnye Urala: sistematika, biologija, ohrana [Orchids of the Urals: taxonomy, biology, protection]. Ekaterinburg: UrO RAN, 2004.
- 7 Juskiewicz-Swarczynna, B., Endler, Z., Slomka, W. "Secondary expansion of *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo in formerly arable areas in Notheastern Poland" *J. Eur. Orch.* 38, no. 2. (2006): 287-288.
- 8 Fuller, F. *Dactylorhiza* und *Orchis*. Die Orchideen Deutschland. Die Neue Brehm-Bucherei. Ed. 2. Nr. 286. Wittenberg Lutherstadt., 1972.
- 9 Borisova, E.A., Kurganov, A.A., Mishagina, D.A. "Osobennosti rasprostraneniya orhidnyh v Ivanovskoj oblasti [Features of the distribution of orchids in the Ivanovo region]" *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo* 3 (3), (2014): 26-29.
- 10 Efimov P.G. Orhidnye severo-zapada Evropejskoj Rossii [Orchids of the northwest of European Russia]. Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK, 2011.
- 11 Igosheva, N.I. "Mestoobitanija redkih vidov Orhidnyh v vostochnyh predgor'jah Srednego Urala [Habitats of rare species of Orchids in the eastern foothills of the Middle Urals]" *Bioraznoolozhenie, problemy jekologii Gornogo Altaja i sopedel'nyh regionov: nastojashhee, proshloe, budushhee, Gorno-Altajsk*, (2010): 136-142.
- 12 Aver'janov, L.V. "Konspekt roda *Dactylorhiza* Neck. Ex Nevski (Orchidaceae), 1 [Synopsis of the genus *Dactylorhiza* Neck. Ex Nevski (Orchidaceae), 1]" *Novosti sistematiki vysshih rastenij*, Tom 25, L.: Nauka. (1988): 48-67.
- 13 The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T176037A7181293. Downloaded on 04 March 2020.
- 14 Smirnova E.S. Morfologija pobegovyh sistem orhidnyh [Morphology of orchid shoot systems]. – M.: Nauka, 1990.
- 15 Perebora E.A. Orhidnye Severo-Zapadnogo Kavkaza [Orchidaceae of the Northwest Caucasus]. – M.: Nauka, 2002.
- 16 Egorina A. V, Zinchenko Ju. K., Zinchenko E. S. Fizicheskaja geografija Vostochnogo Kazahstana [Physical geography of East Kazakhstan]. Ust'-Kamenogorsk: Al'fa-Press, 2003.
- 17 Kotuhov Ju.A., Danilova A.N., Anufrieva O.A. Sovremennoe sostojanie populjacij redkih i ischezajushchih rastenij Vostochnogo Kazahstana [The current state of populations of rare and endangered plants in East Kazakhstan]. Almaty, 2006.
- 18 Tatarenko I.V. Orhidnye Rossii: zhiznennye formy, biologija, voprosy ohrany [Orchids of Russia: life forms, biology, conservation issues]. – M.: Argus, 1996.
- 19 Krasnaja kniga Altajskogo kraja. Redkie i nahodjashchiesja pod ugrozoi ischeznovenija vidy rastenij [Red Book of Altai Territory. Rare and Endangered Plant Species]. – Barnaul: OAO «IPP Altaj», 2006.
- 20 Vahrameeva M.G., Denisova L.V., Nikitina S.V., Samsonov S.K. Orhidei nashej strany [Orchids of our country] – M.: Nauka, 1991.
- 21 IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>.
- 22 Zajcev, G. N. Metodika biometricheskijh raschetov [Biometric calculation method]. M.: Nauka, 1973.
- 23 Jaccard, P. "Distribution de la flore alpine dans le Bassin des Dranses et dans quelques regions voisines" *Bull. Soc. Vaudoise sci. Natur.* 37. Bd. 140. (1901): 241—272.
- 24 Takhtajan A.I. Flowering plants. 2 ed., 2009.
- 25 World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wcsp.science.kew.org/> Retrieved.
- 26 The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).

---

## МАЗМҰНЫ – CONTENTS – СОДЕРЖАНИЕ

<b>1-бөлім</b> <b>Қоршаған ортаны қорғау және</b> <b>қоршаған ортаға антропогендік</b> <b>факторлардың әсері</b>	<b>Section 1</b> <b>Environmental impact of</b> <b>anthropogenic factors and</b> <b>environmental protectiony</b>	<b>Раздел 1</b> <b>Воздействие на окружающую</b> <b>среду антропогенных факторов и</b> <b>защита окружающей среды</b>
<i>Kossalbayev B.D., Zayadan B.K., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Token A., Storay W.</i> Study of the effect of nitrogen-fixing cyanobacteria on the growth rate of the Strawberry Sunrise T-4 strawberry variety ..... 4		
<i>Swiecicka I., Kaiyrmanova G.K., Yernazarova A. K., Toregeldiyeva A.Y., Zhabasova G.K.</i> Study of the porosity of limestone during the cultivation of microorganisms ..... 16		
<i>Маишжан А.С., Измукан А.Ж., Токтырова Д., Кустаубаева А.С., Биркеланд Н.</i> Скрининг и выделение спорообразующих термофильных бактерий из Жаркентского термального источника ..... 23		
<i>Файзулина Э.Р., Айткельдиева С.А., Татаркина Л.Г., Алимжанова М.Б., Алимбетова А.В., Ауэзова О.Н., Спанкулова Г.А.</i> Создание консорциумов углеводородокисляющих микроорганизмов, эффективно деградирующих изомеры ксилола ... 35		
<b>2-бөлім</b> <b>Қоршаған орта</b> <b>ластаушыларының биотаға</b> <b>және тұрғындар денсаулығына</b> <b>әсерін бағалау</b>	<b>Section 2</b> <b>Assessment of</b> <b>environmental pollution</b> <b>on biota and</b> <b>health</b>	<b>Раздел 2</b> <b>Оценка действия</b> <b>загрязнителей окружающей среды</b> <b>на биоту и</b> <b>здоровье населения</b>
<i>Kenzhebayeva S.S., Almurova A.A., Tlendieva Zh.Ch., Abekova A., Miatzhanova K., Atabayeva S.D., Asrandina S.Sh.</i> Difference in phytic acid content and phytase activity between spring wheat variety and new mutant lines ..... 46		
<i>Khametova A.Zh., Zueva N.P., Fatkhudinova E.R., Lovinskaya A.V., Kolumbayeva S.Zh., Shalakhmetova T.M., Abilev S.K.</i> Toxic and mutagenic activity of water samples from natural sources of the Enbekshikazakh district of the Almaty ..... 54		
<i>Калдыбаев Б.К., Ибраева К.Б., Дженбаев Б.М., Жолболдиев Б.Т.</i> Радиоэкологические исследования г. Каракол Иссык-Кульской области ..... 64		
<i>Кенжетасов Г.Ж., Сырлыбекқызы С., Баймукашева Ш.Х.</i> Оценка суммарного загрязнения отстойника сточных вод в районе города Жанаозен ..... 72		
<b>3-бөлім</b> <b>Биологиялық</b> <b>алуантүрлілікті сақтаудың</b> <b>өзекті мәселелері</b>	<b>Section 3</b> <b>Actual problems</b> <b>of biodiversity</b> <b>conservation</b>	<b>Раздел 3</b> <b>Актуальные проблемы</b> <b>сохранения биологического</b> <b>разнообразия</b>
<i>Нурулла М., Кадисова Г.Н., Байсакалов Ч.Г., Сабирова А.Ш., Жұмбабаева А.К., Жолдасова А.К.</i> Мұғалжар ауданы аймағындағы итальяндық шегіртке ( <i>Calliptamus italicus</i> L.) санының маусымдық динамикасы ..... 86		
<i>Сумбембаев А.А., Данилова А.Н.</i> Ценофлора популяций <i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) SOO Калбинского хребта ..... 99		