

<https://doi.org/10.32523/2616-7034>

ISSN(Print) 2616-7034
ISSN(Online) 2663-130X



Л.Н.Гумилев атындағы
Еуразия ұлттық университетінің
ХАБАРШЫСЫ

BULLETIN

of L.N.Gumilyov Eurasian
National University

№2 (139)/2022

ВЕСТНИК

Евразийского национального
университета имени Л.Н.Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ



bulbio.enu.kz

ISSN (Print) 2616-7034
ISSN (Online) 2663-130X

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ
BULLETIN
of L.N. Gumilyov
Eurasian National University

ВЕСТНИК
Евразийского национального
университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

№ 2(139)/2022

1995 жылдан бастап шығады

Founded in 1995

Издается с 1995 года

Жылына 4 рет шығады

Published 4 times a year

Выходит 4 раза в год

Нұр-Сұлтан, 2022

Nur-Sultan, 2022

Нур-Султан, 2022

Бас редакторы Р.І. Берсімбаев
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, проф., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан, Қазақстан
Бас редактордың орынбасары Ж.К. Масалимов
б.ғ.к., доцент, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Редакция алқасы

Абжалелов А.Б.	б.ғ.д., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, м.ғ.д., Назарбаев университеті, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Аликулов З.А.	б.ғ.к., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Аскарова Ш.Н.	б.ғ.к., PhD, Назарбаев университеті, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Ау У.	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Бисенбаев А.К.	б.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі, Өл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы (Қазақстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшава жаратылыстану ғылымдар университеті, Варшава (Польша)
Закиян С.М.	б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей)
Изотти А.	PhD, проф., Генуя университеті, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	м.ғ.д., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Константинов Ю.М.	б.ғ.д., проф., Иркутск мемлекеттік университеті, Иркутск (Ресей)
Моше Саги	PhD, проф., Бен Гурион Негев университеті, Беэр-Шева (Израиль)
Михаил Коломиец	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф., Назарбаев университеті, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
Стегний В.Н.	б.ғ.д., проф., Томск мемлекеттік университеті, Томск (Ресей)
Рубцов Н.	б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей)
Тагаев Д.	PhD, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)

Редакцияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ., Сәтбаев к-сі, 2, Л.Н. Гумилев
атындағы Еуразия ұлттық университеті, 402 б.
Тел: +7 (7172) 709-500 (ішкі 31-428). E-mail: eurjournal@enu.kz

Жауапты хатшы, компьютерде беттеген: А. Бекбаева

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы.

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

Меншіктенуші: КеАҚ "Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті"

Мерзімділігі: жылына 4 рет

Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникациялар министрлігімен тіркелген

02.02.2021ж. № KZ11VPY00031938 қайта есепке қою туралы куәлігі

Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ., Қажымұқан к-сі 13/1

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

Тел: +7 (7172)709-500 (ішкі 31-428). Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

© Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

Editor-in-Chief **R.I. Bersimbaev**
Academician of NAS RK, Doctor of Biological Sciences, Prof.,
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Deputy Editor-in-Chief: **Zh.K. Masalimov**, *Candidate of Biological Sciences, Associate professor,*
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Editorial board

Abzhalelov A.B.	Doctor of Biological Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Akilzhanova A.R.	PhD, Doctor of Medical Sciences, Nazarbayev University, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Alikulov Z.A.	Prof., Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Askarova Sh.N.	PhD, Can. of Biological Sciences, Nazarbayev University, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Au W.	PhD, Prof., University of Texas, Texas (USA)
Bisenbayev A.K.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Academician of NAS RK, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty (Kazakhstan)
Zdunek-Zastocka E.	PhD, Prof, Warsaw University of Life Sciences, Warsaw (Poland) Doctor of Biological
Zakiyan S.M.	Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Izzotti A.	PhD, Prof., University of Genoa, Genoa (Italy)
Ilderbayev O.Z.	Doctor of Medical Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Konstantinov Yu.M.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Irkutsk State University, Irkutsk (Russia)
Moshe Sagi	PhD, Prof., Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva (Israel)
Mikhail Kolomiets	PhD, Prof., Texas University, Texas (USA)
Sarbassov D.D.	PhD, Prof., Nazarbayev University, Nur-Sultan (Kazakhstan)
Stegniy V.N.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Tomsk State University, Tomsk (Russia)
Rubtsov N.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Tagaev D.	PhD, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan)

Editorial address: 2, Satpayev str., of. 402, L.N. Gumilyov Eurasian National University,
Nur-Sultan, Kazakhstan, 010008
Tel.: +7 (7172) 709-500 (ext. 31-428), E-mail: eurjourbio@enu.kz

Responsible secretary, computer layout: Aliya Bekbayeva

Bulletin of L.N. Gumilyov Eurasian National University.

BIOSCIENCE Series

Owner: Non-profit joint-stock company «L.N. Gumilyov Eurasian National University»

Periodicity: 4 times a year

Registered by the Ministry of Information and Communication of the Republic of Kazakhstan

Rediscount certificate № KZ11VPY00031938 from 02.02.2021

Address of Printing Office: 13/1 Kazhimukan str., L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan 010008

Tel: +7 (7172) 709-500 (ext.31-428). Website: <http://bulbio.enu.kz>

© L.N. Gumilyov Eurasian National University

Главный редактор **Р.И. Берсимбай**
профессор, д.б.н., академик НАН РК, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан
Зам. главного редактора **Ж.К. Масалимов**
к.б.н., доцент, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

Редакционная коллегия

Абжалелов А.Б.	д.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, д.м.н., Назарбаев Университет, Нур-Султан (Казахстан)
Аликулов З.А.	к.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан)
Аскарова Ш.Н.	к.б.н., PhD, Назарбаев Университет, Нур-Султан (Казахстан)
Ау У.	PhD, проф., Техасский университет, Техас (США)
Бисенбаев А.К.	д.б.н., проф., академик НАН РК, КазНУ имени аль-Фараби, Алматы (Казахстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшавский университет Естественных наук, Варшава (Польша)
Закиян С.М.	д.б.н., проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия)
Изотти А.	PhD, проф., Университет Генуя, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	д.м.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан)
Константинов Ю.М.	д.б.н., проф., Иркутский государственный университет, Иркутск (Россия)
Моше Саги	PhD, проф., Университет им. Бен-Гуриона в Негеве, Беэр-Шева (Израиль)
Михаил Коломиец	PhD, проф., Техасский университет, Техас (США)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф., Назарбаев Университет, Нур-Султан (Казахстан)
Стегний В.Н.	д.б.н., проф., Томский государственный университет, Томск (Россия)
Рубцов Н.Б.	д.б.н., проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия)
Тагаев Д.	PhD, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан)

Адрес редакции: 010008, Казахстан, г. Нур-Султан, ул. Сатпаева, 2, Евразийский
национальный университет имени Л.Н. Гумилева, каб. 402
Тел: +7(7172) 709-500 (вн. 31-428). E-mail: eurjourbio@enu.kz

Ответственный секретарь, компьютерная верстка: А. Бекбаева

Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева.

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Собственник: НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева»

Периодичность: 4 раза в год

Зарегистрирован Министерством информации и коммуникаций Республики Казахстан

Свидетельство о постановке на переучет № KZ11VPY00031938 от 02.02.2021г.

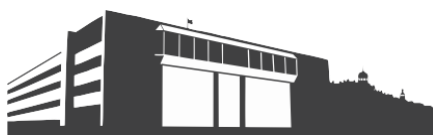
Адрес типографии: 010008, Казахстан, г. Нур-Султан, ул. Кажымукана, 13/1, Евразийский
национальный университет имени Л.Н. Гумилева

Тел.: +7(7172)709-500 (вн.31-428). Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

© Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева

МАЗМҰНЫ/ CONTENTS/ СОДЕРЖАНИЕ

<i>Сапарбекова А.А.</i> Әр түрлі жүзім сорттарынан ферментті препараттың көмегімен ресвератролды алу <i>Saparbekova A.A.</i> Extraction of resveratrol from the pomace of various grape varieties using an enzyme preparation <i>Сапарбекова А.А.</i> Извлечение ресвератрола из разных сортов винограда с помощью ферментного препарата	6
<i>Заканова А.Н., Ержанов Н.Т., Литвинов Ю.Н., Сергазиева З.М.</i> Солтүстік Қазақстандағы жануарлар популяциясының құрылымына өнеркәсіптік ластанудың әсері <i>Zakanova A.N., Yerzhanov N.T., Litvinov Y.N., Sergazinova Z.M.</i> The impact of industrial pollution on the structure of animal populations in Northern Kazakhstan <i>Заканова А.Н., Ержанов Н.Т., Литвинов Ю.Н., Сергазиева З.М.</i> Влияние промышленного загрязнения на структуру популяций животных Северного Казахстана	15
<i>Темрешев И.И., Копжасаров Б.К., Бекназарова З.Б., Исина Ж.М., Джанбатыров А.Ш.</i> Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы мәдени алма ағашы (<i>Malus domestica</i>) мен Сиверс алма ағашы (<i>Malus sieversii</i>) зақымдайтын омыртқасыздардың жаңа және аз белгілі түрлері. Хабарлама 1. Моллюскалар (Mollusca) <i>Temreshev I.I., Kopzhasarov B.K., Beknazarova Z.B., Isina J.M., Dzhambatyrrov A.S.</i> New and little-known invertebrate species that damage the cultivated apple tree (<i>Malus domestica</i>) and the sivers apple tree (<i>Malus sieversii</i>) in the southeast of Kazakhstan. Message 1. Mollusca <i>Темрешев И.И., Копжасаров Б.К., Бекназарова З.Б., Исина Ж.М., Джанбатыров А.Ш.</i> Новые и малоизвестные виды беспозвоночных, повреждающих культурную яблоню (<i>Malus domestica</i>) и яблоню сиверса (<i>Malus sieversii</i>) на юго-востоке Казахстана. Сообщение 1. Моллюски (Mollusca)	29
<i>Муранец А.П., Есимсеитова А.К., Дюсембекова Д.А., Нұртаза А.С., Қалыбаев Қ.Р., Кожанов К.З., Какимжанова А.А.</i> Қазақстандағы <i>Rosa L.</i> тұқымдасының жабайы өсімдіктерінің биоәртүрлілігін зерттеу және олардың молекулярлық-генетикалық идентификациясы <i>Muranets A.P., Yessimseitova A.K., Dyussembekova D.A., Nurtaza A.S., Kalybayev K.R., Kozhanov K.Z., Kakimzhanova A.A.</i> Study of the biodiversity of wild plants of the genus <i>Rosa L.</i> in Kazakhstan and their molecular-genetic identification <i>Муранец А.П., Есимсеитова А.К., Дюсембекова Д.А., Нұртаза А.С., Қалыбаев Қ.Р., Кожанов К.З., Какимжанова А.А.</i> Изучение биоразнообразия дикоросов рода <i>Rosa L.</i> в Казахстане и их молекулярно-генетическая идентификация	44
<i>Қали Б.Р., Рахимжанова А.О., Манабаева Ш.А.</i> Отандық картоп сұрыптарының тікелей емес регенерациясы <i>Kali B.R., Rakhimzhanova A.O., Manabayeva Sh.A.</i> Indirect regeneration of local potato varieties <i>Қали Б.Р., Рахимжанова А.О., Манабаева Ш.А.</i> Непрямая регенерация отечественных сортов картофеля	61
<i>Нұртаза А.С., Есимсеитова А.К., Каримова В.К., Магзумова Г.К., Бақтыбай Б.Н., Кабиева С.Ж., Какимжанова А.А.</i> Сирек кездесетін <i>Malus niedzwetzkyana</i> топырақта бейімделуіне және өсуіне әсер ететін факторларды оңтайландыру <i>Nurtaza A.S., Yessimseitova A.K., Karimova V.K., Magzumova G.K., Baktybay B.N., Kabieva S.Zh., Kakimzhanova A.A.</i> Optimization of factors affecting the adaptation and growth of plants in the soil of the rare <i>Malus niedzwetzkyana</i> <i>Нұртаза А.С., Есимсеитова А.К., Каримова В.К., Магзумова Г.К., Бақтыбай Б.Н., Кабиева С.Ж., Какимжанова А.А.</i> Оптимизация факторов, влияющих на адаптацию и рост растений в почвогрунте редкого вида <i>Malus niedzwetzkyana</i>	70
<i>Мамытова Н.С., Акбаева Л.Х., Кобетаева Н.К., Түлегенов Е.А., Макажанов Е.Ж.</i> Ақмола облысының 2018 жылғы гидрохимиялық көрсеткіштері бойынша су қоймасы мен су ағындарының өзін-өзі тазарту қабілетін зерттеу <i>Mamytova N.S., Akbayeva L.Kh., Kobetayeva N.K., Tulegenov Y.A., Makazhanov Y.J.</i> Study of the self-cleaning ability of a reservoir and watercourses by hydrochemical indicators of Akmola region for 2018 <i>Мамытова Н.С., Акбаева Л.Х., Кобетаева Н.К., Түлегенов Е.А., Макажанов Е.Ж.</i> Изучение самоочищающей способности водоемов и водотоков по гидрохимическим показателям Акмолинской области за 2018 год	86
<i>Аргумбаева А.К., Рахимжанова А.О., Каканай А.К., Манабаева Ш.А.</i> In vitro жағдайында отандық селекциясының жоңышқа сорттарының соматикалық ұлпаларының морфогенезімен регенерациясының ерекшеліктері <i>Argumbayeva A.K., Rakhimzhanova A.O., Kakanay A.K., Manabayeva S.A.</i> Features of in vitro induced morphogenesis and plant regeneration from alfalfa domestic cultivars <i>Аргумбаева А.К., Рахимжанова А.О., Каканай А.К., Манабаева Ш.А.</i> Особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений из соматических тканей люцерны сортов отечественной селекции в культуре in vitro	97
<i>Нұртаза А.С., Дюсембекова Д.А., Какимжанова А.А.</i> Жойылып бара жатқан <i>Malus niedzwetzkyana</i> орта мерзімді сақтау хаттамасын оңтайландыру <i>Nurtaza A.S., Dyussembekova D.A., Kakimzhanova A.A.</i> Optimization of the medium-term storage protocol for the endangered <i>Malus niedzwetzkyana</i> <i>Нұртаза А.С., Дюсембекова Д.А., Какимжанова А.А.</i> Оптимизация протокола среднесрочного хранения исчезающего вида <i>Malus niedzwetzkyana</i>	107
<i>Сибатаев А.К., Алексеева С.С., Андреева Ю.В., Вассерлауф И.Э.</i> Қазақстанда <i>Aedes koreicus</i> (Diptera: Culicidae) қан соратын масаның инвазивті түрін зерттеу <i>Sibataev A.K., Alekseeva S.S., Andreeva Yu.V., Wasserlauf I.E.</i> Investigation of an invasive species of the blood-sucking mosquito <i>Aedes koreicus</i> (Diptera: Culicidae) Kazakhstan <i>Сибатаев А.К., Алексеева С.С., Андреева Ю.В., Вассерлауф И.Э.</i> Исследование инвазивного вида кровососущего комара <i>Aedes koreicus</i> (Diptera: Culicidae) Казахстана	123



Extraction of resveratrol from the pomace of various grape varieties using an enzyme preparation

Abstract. In the Turkestan region, there are factories for the production of wine materials and wine, the activity of which is associated with the formation of grape pomace, which can later be used as feed for cattle; making grape vinegar; in the production of alcohol; when preparing nutrient media for growing yeast. However, such use is not always advisable, given the unique biochemical composition of grape pomace. In addition, this product is not produced in Kazakhstan, and the cost of resveratrol powder produced in Russia is about 2,452.53 rubles per 50g. This article discusses methods for extracting resveratrol from different grape varieties using enzyme preparations.

Resveratrol is a biologically active substance from the group of polyphenols, isolated from red grapes, grape pomace, and grape seeds, which have anticarcinogenic, antioxidant, and anti-inflammatory properties. Extraction experiments were carried out in three combinations using A. awamori F-RKM 0719 culture, Pectinol F-RKM 0719 enzyme preparation, and control. The analysis carried out has fully confirmed the effectiveness of using the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719. In all the experiments carried out, an increase in the amount of released resveratrol was observed almost twice as compared with the control experiments. Also, the use of the A. awamori F-RKM 0719 strain, the producer of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, showed a positive effect on the resveratrol yield. When using the Cabernet Sauvignon variety, the maximum amount of resveratrol which corresponds to the previously conducted experiments on the extraction of resveratrol from grape berries of various varieties.

Keywords: grapes, grape pomace, resveratrol, polyphenols, enzyme preparation.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-6-14

Introduction

Kazakhstan having huge land resources with a good biochemical soil composition and a favorable climate, especially in the south of the country, has every chance of becoming one of the leading countries in the world in the field of viticulture and winemaking. Grapes are used to obtaining wine, fresh and dried berries, jams, juices, etc. The traditionally recognized usefulness of grapes is confirmed by modern studies of the antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor activity of the resveratrol contained in them. Positively affecting the cardiovascular system, resveratrol is present in various proportions in all of the above viticulture products. [1].

In the conditions of the south and southeastern zone of Kazakhstan, with an abundance of solar heat and the availability of irrigation water, vineyards allow getting a good harvest and can be highly profitable [2]. 70 percent of all Kazakhstani grapes are grown in South Kazakhstan [3], and in recent years there has been interesting from entrepreneurs in the field of wine production. So, in the Turkestan region, Saryagash district, LLP Chateau Silk Alley was recently opened, specializing in the first stage in the production of red wines, such as Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Chardonnay, Muscat, Rkatseteli, Taifi, etc. season, its production base assumes a one-time supply of 3 million liters of wine material [4].

At the Issyk plant, located near Almaty, they began to use enzyme preparations for the enzymatic maceration of fruit and berry raw materials in the production of wine fifty years ago. This became a good basis for the development of winemaking [5]. Enzymes play a multifaceted role in the living cell. Using them in the implementation of processes associated with the destruction of the walls of plant cells allows for maximizing the extraction of the main ingredients of plant raw materials. Therefore, enzymes should be widely used in the food industry in the production of juices and wines.

Imported enzymes and enzyme preparations are widely used in Kazakhstan. Only the development of biotechnology, in particular the production of enzyme preparations, will make it possible to move the food industry to a new level without waste and low-waste technologies.

The most used industrial strains producing pectinases belong to the genus *Aspergillus*, synthesizing a wide range of hydrolytic enzymes, which provide effective destruction of polymers of plant raw materials in technologies for the production of juices fermented drinks based on juices [6].

The ingestion of polyphenols in the human body has a positive effect on the normalization of blood pressure. Grape polyphenols in a certain amount help to improve the metabolism of substances, especially glucose and lipids. However, it should be noted that the results of some studies show conflicting results. Resveratrol is a polyphenol found in red wine in an amount of 0.2-7 mg / l, depending on the grape variety from which it is produced.

In the production technology of table grape wines, the mass concentration of phenolic substances is not standardized [7]. At the same time, it is known that modern industrial technologies for the production of red wines make it possible to achieve a phenol content in the range of 1.5–5 g/dm³ [8]. Food concentrate of polyphenols "Enoant" prepared from a water-alcohol infusion of sweet pomace of Cabernet Sauvignon grapes with a total concentration of phenolic substances of 18-20 g/dm³ [9].

Among the many positive effects of resveratrol are the normalization and improvement of cellular metabolism, the regulation of fat and carbohydrate metabolism, strengthening of the vascular wall and reducing its permeability, improving blood rheological parameters, and anti-allergic, radioprotective, anti-inflammatory, anti-cancer and vasodilatory effects [10-13]. It should be noted that a significant amount of resveratrol remains in the grape pomace [12]. This healthy compound is present in the grapes, but a fraction is lost as waste after juice production and another fraction has limited bioavailability, reducing the effectiveness of these polyphenolic compounds [13].

Thus, a review of the literature shows the need to develop new efficient extraction methods to increase the bioavailability of polyphenols [11]. Resveratrol is found in red wine in an amount of 0.2-7 mg / l, depending on the grape variety from which it is produced. It should be noted that a significant amount of resveratrol remains in the grape pomace [12].

The purpose of the research is to determine the effectiveness of the use of enzymes to obtain a large amount of extractable resveratrol from the pomace of various grape varieties.

Materials and methods

A number of generally accepted methods were used in the studies: isolation of pure cultures of microorganisms-producers of pectinases from the environment; determination of the degree of pathogenicity and allergenicity of the strain by conventional methods (Birger MO, 1982) was carried out at the Kazakh Institute of Nutrition (LLP «Nutritest»); determination of the mass concentration of resveratrol by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC), used for the analysis of polyphenols in plant raw materials [14]; determination of enzymatic activity was carried out according to the methods of the current standards (GOST R): GOST R 55298-2012 – Methods for determining pectolytic activity. The standard applies to enzyme preparations and enzyme-containing mixtures – sources of enzymes of the pectolytic complex used in the food industry and establishes methods for determining pectolytic activity; <https://docs.cntd.ru/document/1200100980>.

The determination of the total pectolytic activity was carried out using an LIR-2 interferometer (Russia), where, under the influence of enzymes of the pectolytic complex, the hydrolysis of pectin was not precipitated by zinc sulfate was determined. A unit of pectolytic activity was taken as the amount of enzyme that, at pH 5.0 and a temperature of 30°C, catalyzes 1 g of pectin in 1 min to products that are not precipitated by zinc sulfate.

GOST R 55293-2012 – Methods for determining cellulase activity. This standard applies to enzyme preparations and enzyme-containing mixtures of cellulolytic action used in the food industry and establishes a method for determining cellulase activity; <https://docs.cntd.ru/document/1200100977>.

Determination of cellulase activity is based on measuring the rate of formation of reducing sugars by the Somogyi-Nelson method during the hydrolysis of carboxymethyl cellulose. A 1% solution of sodium carboxymethyl cellulose in 0.1 M acetate buffer with pH 5 is used as a substrate for 5 minutes. The off-scale activity of cellulase activity is such an amount that in 1 minute at a temperature of 50 ° C and pH 5.0 hydrolyzes carboxymethyl cellulose with the formation of reducing sugars equivalent to 1 μmol of glucose.

GOST R – Methods for the determination of pectate and pectin lyase activity. This standard applies to enzyme preparations and enzyme-containing mixtures – sources of enzymes that destroy pectin substances by the transaminase mechanism of action, used in the food industry, and establishes methods for determining pectate and pectin-lyase activity;

The multienzyme complex was obtained by mixing enzyme preparations containing pectinase, cellulase, 3emicellulose, and β -glucanase, which were taken in optimal amounts determined experimentally. The enzyme preparation was mixed in a PM 100 ball mill (Retsch, Germany) for 10 min at 250 rpm at room temperature.

Results and Discussion

To select plant raw materials as an industrial source of biologically active substances, one should be guided by the following criteria: a relatively high content of resveratrol in the raw material, a stable raw material base, indicators of the quality of the isolated resveratrol in accordance with the requirements of the food and medical industry. Resveratrol is a natural phytoalexin secreted by some plants, including grapes, as a defense against parasites such as bacteria and fungi, with most of it, concentrated in grape skins. Studies carried out on model objects have proven the therapeutic effect of resveratrol, but its effect is limited by its low bioavailability. It was found that the highest mass concentration of phenolic and coloring substances was achieved with a sugar content of grapes of 180-250 g / dm^3 during the entire ripening period.

To isolate resveratrol from grape pomace, pre-crushed, extraction was carried out using an aqueous solution of alcohol - 70% as one of the optimal extractants. To maintain the stability of polyphenols in a concentrated extract of grape pomace, a method was developed that involves the distillation of ethanol under vacuum from an equilibrium extract to a strength of 3% by volume. Then, after evaporation, hot water was added, and after the removal of non-polar carotenoid compounds, fats, and other lipophilic substances, resveratrol was extracted from the aqueous medium with aglycones.

Further, the identification of resveratrol from Cabernet Sauvignon grapes was carried out. Detection of resveratrol in the HPLC study was performed at a wavelength of 307 nm. Resveratrol retention time 8.3 min. Extraction experiments were carried out in three combinations using *A. awamori* F-RKM 0719 culture, Pectinol F-RKM 0719 enzyme preparation, and a control using only chemicals. The most promising for the isolation of resveratrol is Cabernet Sauvignon because the highest mass concentration of phenolic and coloring substances is found in berries from the selected variety (Figure 1-3).

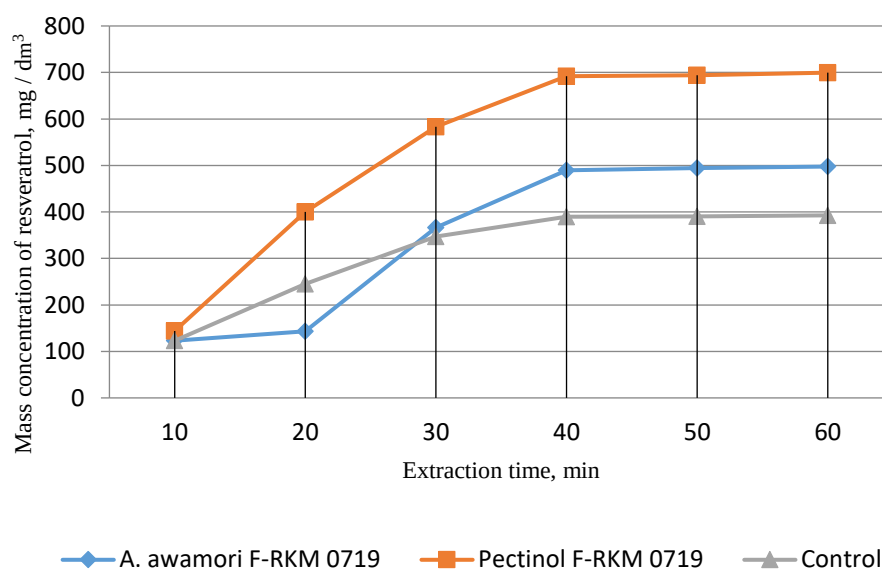


Figure 1. Effect of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, produced by the A. awamori F-RKM 0719 strain on the extraction of resveratrol from the pomace of Cabernet Sauvignon grapes

Enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, isolated from A. awamori F-RKM 0719, purification using the sorption method and ion analysis with a high degree of color purification - 99%, with a specific activity of 525.0 units / ml of protein, with a high the yield of enzymes by pectinase activity - 10.8 U / ml and polygalacturonase activity - 6.8 U / ml.

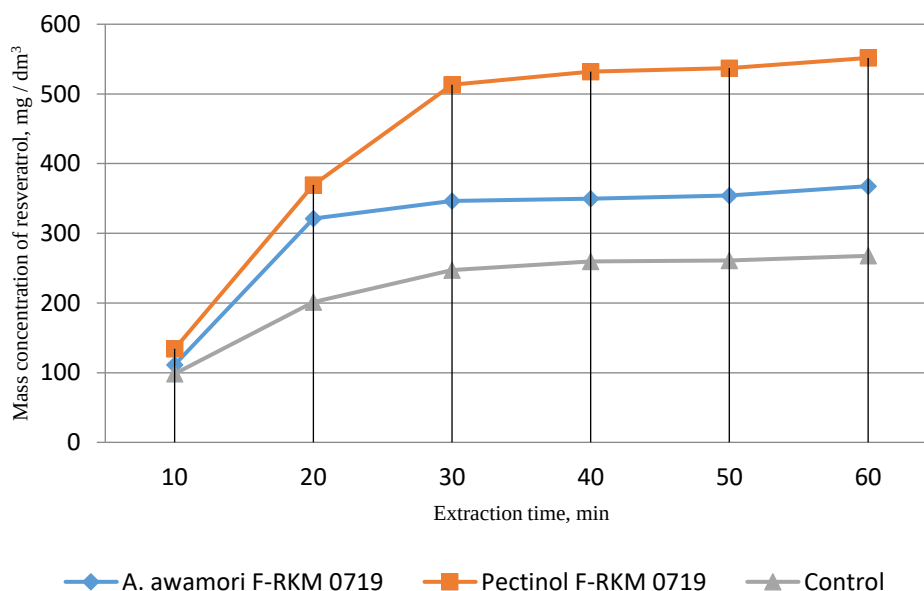


Figure 2. Influence of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 produced by the A. awamori F-RKM 0719 strain on the extraction of resveratrol from the pomace of Saperavi grapes

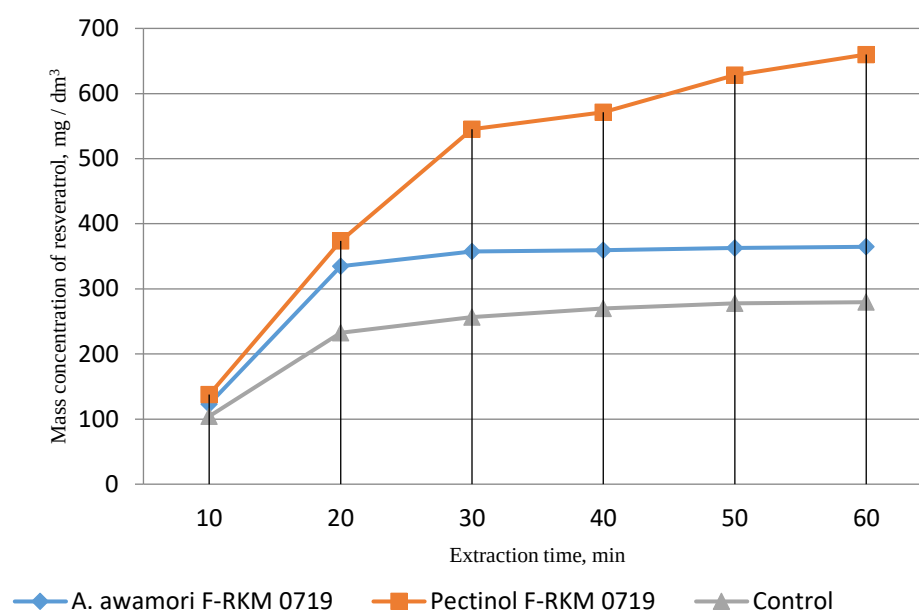


Figure 3. Influence of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, produced by the A. awamori F-RKM 0719 strain on the extraction of resveratrol from grapes pomace of the Matrasa variety

The A. awamori F-RKM 0719 strain was deposited in the Republican State Enterprise on the right of economic management "Republican Collection of Microorganisms" of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan. The enzymatic activity of the new strain was: pectinase - 1.65 U / ml, polygalacturonase - 0.97 U / ml, pectinesterase - 0.52 U / ml, pectin-lyase - 1.30 U / ml, β -glucanase - 1.22 U / ml. / ml, cellulolytic - 0.90 units / ml [15].

When developing combined methods for obtaining an enzyme preparation, the efficiency of using methods of purification from interfering impurities was taken into account. The method should also ensure the maximum thermal and pH stability of the enzymes. After pre-treatment of the cultural biomass, active enzymes were extracted, and then they were purified and concentrated. The cleaning process includes the following steps: treatment with microporous coals; treatment with anion exchange resins; isolation and activation of pectinases with nanosized Si-hydroxyapatite; concentration and desalting by ultrafiltration and freeze drying [15].

The analysis carried out fully confirmed the effectiveness of the use of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719. In all the experiments carried out, an increase in the amount of resveratrol released was observed almost twice as compared to the control experiments. Also, the use of the A. awamori F-RKM 0719 strain, the producer of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, showed a positive effect on the resveratrol yield. When using the Cabernet Sauvignon variety, the resveratrol yield is maximum, which corresponds to the previously conducted experiments on the extraction of resveratrol from grape berries of various varieties.

The temperature of the extraction process has a significant effect on the amount of resveratrol released due to changes in the structure of the protein complex of the multienzyme component, and the efficiency of the exchange of individual components with their contents and a set of phenomena that change the microenvironment of the main enzyme - Pectinol F-RKM 0719 by other drugs.

Experiments on the extraction of resveratrol showed an increase in the isolated extract with an increase in temperature from 20 to 35 ° C, a further increase in temperature had a positive effect only in control experiments without using the A. awamori F-RKM 0719 strain and the Pectinol F-RKM 0719 enzyme preparation. The maximum extraction of resveratrol was in experiments with grape pomace of Cabernet Sauvignon. The mass concentration of resveratrol is approximately 700 mg/ dm³. The optimum extraction temperature was chosen at 35 ° C, with a duration of 30 minutes.

The research was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, under the project AP09563292 "Development of technology for the extraction of biologically active substances from plant raw materials with a multi-enzyme preparation, followed by enrichment of fruit juices and fermented beverages."

Conclusion

In South Kazakhstan, 70 percent of all Kazakhstani grapes are grown, and the area of grapes is increasing every year. Grapes are valuable raw materials for obtaining grape juice, wine, grape oil, and raisins. Grape pomace is a by-product of grape processing and winemaking. By their chemical composition, secondary products of grape processing are valuable raw material for obtaining a variety of new products.

The use of enzyme preparations will increase the amount of extractable resveratrol from grape pomace. Its industrial production will displace the imported product. Its use in the food industry will positively affect the health of the population. Extraction and continued use of resveratrol are medically recommended. Resveratrol has a positive effect on the body's metabolism, in particular on the normalization of blood pressure and blood glucose levels, as well as improving lipid metabolism. However, some studies have shown conflicting results, which may be related to significant restrictions on their bioavailability. Consequently, more extensive and in-depth scientific research is needed to more accurately determine the role of polyphenols, methods of extraction, and enhancement of their bioavailability.

The experiments showed the effectiveness of using the A. awamori F-RKM 0719 strain, the producer of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, and the multienzyme complex of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 071, while the optimum extraction temperature was chosen at 35 ° C, with a duration of 30 minutes. Maximum extraction of resveratrol was in experiments with the pomace of Cabernet Sauvignon, the mass concentration of resveratrol approximately 700 mg / dm³.

References

1. Маденов Э.Д. Состояние и перспективы развития виноградарства в Казахстане, Аграрная наука - сельскохозяйственному производству Республики Казахстан, Сибири, Монголии и Кыргызстана. - Алматы: Бастау, 2005. - С.103-106.
2. Маденов Э.Д. Виноградарство Казахстана в условиях кластерно-индустриального развития // Кластерно-индустриальное развитие аграрного производства: основные проблемы и перспективные направления: материалы Международной научно-практической конференции. - Алматы, 2005. -С. 322-328.
3. Южный Казахстан: виноделие возрождается. Областная общественно-политическая газета «Южный Казахстан». [Электронный ресурс] – URL: <https://yujanka.kz/yuzhnyj-kazahstan-vinodelie-vozhrozhdaetsya/> (дата обращения: 09.01.2019).
4. Shakiryanova Z., Saparbekova A.A. An innovative way to use an extract the viticulture by-products //Materials of the international scientific and practical conference “Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy”. - Almaty, 2021. - P. 112-115.
5. Блиева Р.К., Мартаков А.А., Дианова О.П., Бектаева Л.И. Применение ферментного препарата продуцента гриба *Asp. niger* для увеличения выхода виноградного сусла // Виноделие и виноградарство СССР. - 1962. - №5. - С. 32-36.
6. Сулейменова Ж.Б., Рахметова Ж.К., Нурлыбаева А.Е. Биосинтез пектин расщепляющих ферментов микромицетами рода *Aspergillus* // Биотехнология. Теория и практика. - 2012. - №3. - С. 72-76.

7. ГОСТ 32030-2013. Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия. Введ. 2014-07-01. - Москва: Стандартинформ. - 2013. - 7 с.
8. Валушко Г.Г. Технология виноградных вин. - Симферополь: Таврида, 2001. - 624 с.
9. Огай Ю.А. Полифенольные биологически активные компоненты пищевого концентрата «Эноант» // Труды Крым. гос. мед. университета им. С.И. Георгиевского. - 2005. - Т. 141, ч. 1. - С. 14-19.
10. Benberin B., Yermakhanova G.A., Akhetov A.A., Vochshenkova T.A., Shanazarov N.A., Naurazbayeva A.Y. Efficiency of grape polyphenols in patients with metabolic syndrome / Bulletin of National Academy of the Republic Kazakhstan. - 2018. - Vol. 1. - № 371. - P. 37-42.
11. Romero-Perez A.I. Method for the quantitative extraction of resveratrol and piceid isomers in grape berry skins. Effect of powdery mildew on the stilbene content // Agric. Food Chem. - 2001. - № 49. - P. 210-215.
12. Careri M. Direct HPLC analysis of quercetin and trans-resveratrol in red wine, grape, and winemaking byproducts // Agric. Food Chem. - 2003. - № 51. - P. 5226-5231.
13. Baur J.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence // Nat. Rev. Drug Discov. - 2006. - № 5. - P. 493-506.
14. Delmas D. Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer // Curr. Drug Targets. - 2006. - № 7. - P. 423-442.
15. Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Сапарбекова А.А., Ашир А.К. Мультиэнзимная композиция для виноделия: патент на полезную модель РК: № 016/0147.2.

А.А. Сапарбекова

М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан

Әр түрлі жүзім сорттарынан ферментті препараттың көмегімен ресвератролды алу

Аңдатпа. Оңтүстік Қазақстанда барлық қазақстандық жүзімнің 70 пайызы өсіріледі және жыл сайын жүзім алқабы артуда. Түркістан облысында шарап материалдары мен шарап өндіретін зауыттар жұмыс істейді, олардың қызметі жүзім сығындыларының түзілуімен байланысты, оларды кейіннен ірі қара малға азық ретінде пайдалануға; жүзім сірке суын дайындауға; спирт өндіруге; ашытқы өсіру үшін қоректік ортаны дайындау кезінде қолдануға болады. Бірақ, жүзім сығындыларының ерекше биохимиялық құрамын ескеріп, мұндай пайдалану әрдайым ұсынылмайды. Мақалада ферментті препараттарды қолданып, жүзімнің әртүрлі сорттарынан ресвератролды алу әдістері қарастырылады.

Ресвератрол-бұл қызыл жүзімнен, жүзім сығындыларынан және жүзім сүйектерінен бөлінген, антиканцерогендік, антитотықтырғыш және қабынуға қарсы қасиеттері бар полифенолдар тобындағы биологиялық белсенді заттар. Бөліп алу тәжірибелері А. awamori F-RKM 0719 мәдениетін, пектинол F-RKM 0719 ферменттік препаратын және бақылауды қолданып, үш комбинацияда жүргізілді. Жүргізілген талдаулар Пектинол F-RKM 0719 ферменттік препаратын пайдалану тиімділігін толық анықтады. Барлық жүргізілген тәжірибелерде бақылау тәжірибелерімен салыстырғанда бөлінген ресвератрол мөлшерінің екі есе өсуі байқалады. Пектинол F-RKM 0719 ферменттік препаратын өндіруші А. awamori F-RKM 0719 штаммын қолдану ресвератролдың шығымына оң әсерін көрсетті. Каберне Совиньон түрін қолданған кезінде ресвератролдың шығымы өте көп болады, бұл әртүрлі сорттардың жүзім жидектерінен ресвератролды алу бойынша алдын-ала жүргізілген тәжірибелерге сәйкес келеді.

Түйін сөздер: жүзім, жүзім помасы, ресвератрол, полифенолдар, ферментті препарат.

А.А. Сапарбекова

Южно-Казахстанский университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

Извлечение ресвератрола из разных сортов винограда с помощью ферментного препарата

Аннотация. В Южном Казахстане выращивается 70 процентов всего казахстанского винограда, и с каждым годом площади винограда увеличиваются. В Туркестанской области действуют заводы по производству виноматериала и вина, деятельность которых сопряжена с образованием виноградных выжимок, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве корма для крупного рогатого скота; приготовления виноградного уксуса; в производстве спирта; при подготовке питательных сред для выращивания дрожжей. Однако такое использование не всегда целесообразно, с учетом уникального биохимического состава виноградных выжимок. В данной статье рассматриваются методы извлечения ресвератрола из разных сортов винограда с помощью ферментных препаратов.

Ресвератрол - это биологически активное вещество из группы полифенолов, выделенное из винограда красных сортов, виноградных выжимок и виноградных косточек, обладающее антиканцерогенными, антиокислительными и противовоспалительными свойствами. Опыты по извлечению проводили в трех комбинациях: с использованием культуры *A. awamori* F-RKM 0719, ферментного препарата *Пектинол* F-RKM 0719 и проведение контрольного опыта. Проведенные анализы полностью подтвердили эффективность использования ферментного препарата *Пектинол* F-RKM 0719. Во всех проведенных экспериментах наблюдается увеличение количества выделенного ресвератрола почти в два раза по сравнению с контрольными опытами. Также положительное воздействие на выход ресвератрола оказало использование штамма *A. awamori* F-RKM 0719, продуцента ферментного препарата *Пектинол* F-RKM 0719. При использовании сорта Каберне Совиньон выход ресвератрола максимальный, что соответствует предварительно проведенным опытам по извлечению ресвератрола из виноградных ягод различных сортов.

Ключевые слова: виноград, выжимки винограда, ресвератрол, полифенолы, ферментный препарат.

References

1. Madenov E.D. Sostoyanie i perspektivy razvitiya vinogradarstva v Kazahstane, Agrarnaya nauka - sel'skohozyajstvennomu proizvodstvu Respubliki Kazahstan, Sibiri, Mongolii i Kyrgyzstana. [State and prospects for the development of viticulture in Kazakhstan, Agrarian science - agricultural production of the Republic of Kazakhstan, Siberia, Mongolia and Kyrgyzstan] (Bastau, Almaty, 2005, P.103-106). [in Russian]
2. Madenov E.D. Vinogradarstvo Kazahstana v usloviyah klasterno-industrial'nogo razvitiya // Klasterno-industrial'noe razvitie agrarnogo proizvodstva: osnovnye problemy i perspektivnye napravleniya: materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii [Cluster-industrial development of agricultural production: main problems and promising directions, Materials of the International Scientific and Practical Conference, Almaty], 322-328 (2005). [in Russian]
3. YUzhnyj Kazakhstan: vinodelie vozrozhdaetsya. Oblastnaya obshchestvenno-politicheskaya gazeta «YUzhnyj Kazakhstan» [South Kazakhstan: winemaking is reviving, Regional sociopolitical newspaper "South Kazakhstan"]. [Electronic resource] - Available at: <https://yujanka.kz/yuzhnyj-kazakhstan-vinodelie-vozrozhdaetsya/> (Accessed: 09.01.2019). [in Russian]
4. Shakiryanova Z., Saparbekova A.A. An innovative way to use an extract the viticulture by-products //Materials of the international scientific and practical conference “Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy”, Almaty, 112-115 (2021).

5. Blieva R.K., Martakov A.A., Dianova O.P., Bektaeva L.I. Primenenie fermentnogo preparata producenta griba *Asp. niger* dlya uvelicheniya vy`khoda vinogradnogo susla [The use of the enzyme preparation of the producer of the fungus *Asp. niger* to increase the yield of grape must] Vinodelie i vinogradarstvo SSSR [Winemaking and viticulture of the USSR], 5, 32-36 (1962). [in Russian]
6. Sulejmenova Zh.B., Rakhmetova Zh.K., Nurly`baeva A.E. Biosintez pektin rassheplyayushhikh fermentov mikromicetami roda *Aspergillus* [Biosynthesis of pectin degrading enzymes by micromycetes of the genus *Aspergillus*], Biotekhnologiya. Teoriya i praktika [Biotechnology. Theory and practice], 3, 72-76 (2012). [in Russian]
7. GOST 32030-2013. Vina stolovye i vinomaterialy stolovye. Obshchie tekhnicheskie usloviya [Table wines and table wine materials. General specifications]. Vved. 2014-07-01. Moscow, Standartinform, 2013. P. 7. [in Russian]
8. Valujko G.G. [Technology of grape wines] (Simferopol': Tavrida, 2001, 624 p.). [in Russian]
9. Ogaj YU.A. Polifenol'nye biologicheski aktivnye komponenty pishchevogo koncentrata «Enoant», Trudy Krym. gos. med. universiteta im. S.I. Georgievskogo [Polyphenolic biologically active components of the food concentrate "Enoant", Proceedings of the Crimea. state honey. University. S.I. Georgievsky], 141(1), 14-19 (2005). [in Russian].
10. Benberin B., Yermakhanova G.A., Akhetov A.A., Vochshenkova T.A., Shanazarov N.A., Naurazbayeva A.Y. Efficiency of grape polyphenols in patients with metabolic syndrome, Bulletin of National Academy of the Republic Kazakhstan, 1(371), 37-42. (2018).
11. Romero-Perez A.I. Method for the quantitative extraction of resveratrol and piceid isomers in grape berry skins. Effect of powdery mildew on the stilbene content, Agric. Food Chem., 49, 210-215 (2001).
12. Careri M. Direct HPLC analysis of quercetin and trans-resveratrol in red wine, grape, and winemaking byproducts, Agric. Food Chem., 51, 5226-5231 (2003).
13. Baur J.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence, Nat. Rev. Drug Discov., 5, 493-506 (2006).
14. Delmas D. Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer, Curr. Drug Targets, 7, 423-442 (2006).
15. Dzhakasheva M.A., Kedel'baev B.SH., Saparbekova A.A., Ashir A.K. Mul'tienzimnaya kompoziciya dlya vinodeliya: patent na poleznuyu model' [Multi-enzyme composition for winemaking utility model patent] RK: № 016/0147.2. [in Russian]

Information about the author:

Saparbekova A.A. - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biotechnology, M. Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, Kazakhstan.

Сапарбекова А.А. - биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология кафедрасының доценті, М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан.

А.Н. Заканова¹, Н.Т. Ержанов¹, Ю.Н. Литвинов², З.М. Сергазинова¹¹Торайгыров университет, Павлодар, Казахстан²Институт систематики и экологии животных РАН, Новосибирск, Россия

*Автор для корреспонденции: assel.biology@gmail.com

Влияние промышленного загрязнения на структуру популяций животных Северного Казахстана

Аннотация. Исследование проводилось в весенне-летний период 2021 года на территории Павлодарской области. Изучены численность популяций, половая и возрастная принадлежность мелких млекопитающих. Использовались давилки Геро и ловчие канавки с конусами на техногенной территории вблизи Павлодарского алюминиевого и Казахстанского электролизного заводов. Исследованы 173 животных: на фоновых участках – 104, на техногенных территориях – 69. Животные принадлежат к 15 видам двух отрядов: Грызуны и Насекомоядные. В результате исследований отмечено уменьшение видового богатства ($<0,695$) и видоразнообразия ($<0,228$), доминирование узкочерепной полевки (42) и степной мышовки (26,1) на участках, подверженных антропогенной нагрузке. У степной мышовки и узкочерепной полевки увеличивается количество самцов, участвующих в размножении на территориях вблизи заводов (67%), по сравнению с контрольной (33%). На контрольных участках самок половозрелых особей было меньше (42%), чем на техногенных (58%). Плодовитость самок (число эмбрионов) ниже на контрольном участке ($\pm 5,28$) по сравнению с техногенной зоной ($\pm 6,1$).

Ключевые слова: млекопитающие, видоразнообразие, выровненность, видовое богатство, промышленные выбросы.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-15-28

Введение

Выбросы от транспорта, заводов, сельского хозяйства, теплоэлектростанций окружают человечество, животный и растительный мир повсеместно. В современном мире в наше время происходит смещение приоритетов в вопросе развития промышленных и сельскохозяйственных сфер. Возрастает деятельность международных организаций по защите окружающей среды. Ориентир постепенно фокусируется с экономического аспекта на природоохранный. Поэтому вопросы мониторинга и сохранности окружающей среды наиболее актуальны в регионах с активно развивающимся производством. В Павлодарской области на северо-востоке Казахстана располагаются главные промышленные объекты, решающие экономику региона. Это получение угля, выпуск ферросплавов, производство алюминия, выработка электроэнергии [1,2]. В Павлодарском регионе расположены АО «Алюминий Казахстана», ТОО «Павлодарский нефтехимический завод», ПФ ТОО «Кастинг», АО «Павлодарэнерго», АО «Казахстанский электролизный завод», ПФ ТОО «KSP Steel» и другие производства.

Исследователями [3,4,5] было доказано влияние эмиссий промышленности на загрязнение атмосферы, почвы и, как следствие, растений и животных.

В природных условиях на выраженность ответа отдельных компонентов биоты на токсическое воздействие может повлиять множество факторов. В первую очередь абиотический фактор: физико-химические, почвенно-климатические состояния локальной среды, пространственная мозаичность территории. Биотический компонент также является важным фактором: особенности пищевого рациона, длина пищевых цепей, устойчивость сообществ, миграционные пути и особенности [6].

Выбросы поступают в организм через вдыхаемый воздух у наземных животных или через устьица у растений. Водные обитатели поглощают загрязнители путем фильтрации воды. Поллютанты могут попадать во внутреннюю среду через почву у растений или через цепи выедания: путем поглощения растительной пищи у консументов первого порядка и через связь жертва-хищник у плотоядных животных. Имеются исследования, показывающие более значимую роль поступления эмиссии через пищевые отношения между компонентами биоты, чем через дыхательные пути [7,8]. David I. G., Singh R. и др. продемонстрировали в своем исследовании зависимость между количеством тяжелых металлов в растительности и растительноядными организмами [9,10].

Еще с прошлого столетия проводились исследования, так, Герц и соавторы сделали вывод, что некоторые мелкие млекопитающие, проживавшие близ автомагистралей, не имели отличий от животных контрольных групп в содержании свинца. Однако у других при возрастании техногенного загрязнения появлялась корреляционная зависимость в уровне свинца в организме [11]. Наблюдается неравномерность при проявлении накопления тяжелых металлов у организмов разных видов. Это можно объяснить различными типами питания и экологии животных. Животные, питающиеся зелеными надземными частями растений (например, полевки рода *Microtus*), подвергаются более высоким влияниям аэрогенных выбросов промышленности, чем типичные зерноядные виды (например, лесные мыши). Животные, имеющие смешанный рацион, например, рыжие и красные полевки питаются насекомыми и ветками, проявляют промежуточную степень накопления.

В современной литературе хорошо описано воздействие тяжелых металлов на организмы лабораторных животных в качестве модельных объектов [12,13]. Поэтому в нашем исследовании стал вопрос: как промышленное загрязнение влияет на мелких животных (микромаммалий) на популяционном уровне в Северном Казахстане?

Выделения от деятельности промышленных предприятий, попадая в биотический компонент экосистем, в первую очередь вызывают физиологические и биохимические нарушения на клеточном и тканевом уровнях [12,13,14] и, мы предполагаем, влияют и на популяционный и биоценотический уровни.

Пространственно-функциональная структура популяции важна при описании ответной реакции на негативное антропогенное воздействие. Отдельные компоненты популяций по-разному реагируют на действие поллютантов и, как следствие, могут присутствовать разное соотношение в численности самок и самцов, возрастное доминирование, плодовитость особей.

Рассматривая мелких млекопитающих, в частности грызунов, важно понимать, что нельзя определить конкретный пороговый уровень присутствия элементов в организме. Считается, что пороговый уровень свинца в крови человека не должен превышать 10 мкг/100 мл. Первичным признаком интоксикации является повышение эритроцитарной аминолевулинадегидрогеназы. При показателях выше 50 мкг/100 мл начинается анемия [15]. Однако не у всех индивидуумов наблюдается такая картина, некоторые могут не обнаруживать у себя признаки анемии при этом уровне свинца, а некоторые будут страдать еще при меньших показателях. В экотоксикологии берется за критический пороговый уровень присутствия загрязнителей в организме, значение при котором наблюдаются первые признаки, влияющие на популяцию в целом. Это влияние на способность к размножению и рождению новых особей и выживаемость животных [16]. Еще в прошлом столетии был найдено пороговое значение ртути и свинца. Это 8-1,0 мкг/100 мл и 20-40 мкг / 100 мл [17,18].

Следующим фактором, влияющим на концентрацию токсикантов в организме, являются возрастные особенности животных. Влияние промышленных производств на содержание тяжелых металлов в организмах млекопитающих в зависимости от возрастной динамики популяций являлось предметом многих исследований. Микромаммалии в естественной среде

обитания условно группируют по возрастному признаку на неполовозрелых и половозрелых сеголеток и перезимовавших особей [19]. Мухачева С.В., Безель С.В. и др. приводят данные о наибольшем относительно контроля присутствии свинца и кадмия у полевок на втором году жизни [19]. При проведении лабораторных исследований на модельных животных обнаружены высокие концентрации токсических элементов, особенно радиоактивных изотопов, в соединительной ткани животных (скелет). Животные в лабораторных условиях подвержены на протяжении всего постнатального периода действию токсикантов в отличие от организмов, проживающих в естественных условиях обитания. Неполовозрелые сеголетки уже рождаются с наличием загрязнителей в организмах. Об этом свидетельствуют низкая оссификация и сведения о проницаемости плаценты для большого количества загрязняющих веществ. Однако показатель токсикантов далек от показателей организма матери. В скелете новорожденных лабораторных крыс (*Rattus*) содержание стронция 90, что в 4-10 раз уступает показателям материнского организма [20]. Похожие данные были получены и по другим элементам. В исследованиях Барановской Н., Беляновской А. приводятся данные об увеличении тяжелых металлов в половой системе у мелких млекопитающих с возрастом и с высокими концентрациями в рационе питания [21].

Помимо рациона и возраста животного имеет значения половая принадлежность. Это связано с различием в метаболизме и экологии самок и самцов млекопитающих (суточная активность, участие в размножении, размер места обитания) и, следовательно, с количеством потребляемой пищи. Так, у красных полевок (*Arborimus longicaudus*) в скелетах содержание свинца превышает у самцов. У зверьков мужского пола потребление пищи на 30-40% выше, чем у женских организмов [22].

Как и возрастной критерий, различия в половой принадлежности проявляются тем выше, чем выше уровень техногенной нагрузки на экосистему.

Методы

Материал был получен в результате полевых работ на территории Павлодарской области (Северный Казахстан). Исследование проводилось в 2021 году в весенне-летний период. Особенностью географии Павлодарского региона является разделение на две зоны: северо-восточная равнина и юго-западные мелкие сопки. Северо-восточная равнина пересекается озерными котловинами и небольшими холмами. На юго-восточной части области присутствует рельеф, образованный деятельностью ветра и пыли. Абсолютная высота в данных местностях достигает 100-150 метров над уровнем моря. Вместе эти зоны образуют Прииртышскую равнину. Казахстанский мелкосопочник на юго-востоке поднимается на 200-250 до 300-350 метров над уровнем моря.

Павлодарская область характеризуется постоянными ветрами: 95% дней в году со средней скоростью 4-5 метров в секунду. Климатические условия стабильны, среднегодовая температура изменяется на 0,5 °C на севере до 2 °C на юге области. Температура зимой стабильно минусовая, с самыми холодными месяцами: январь и февраль. Среднемесячная температура зимой 13-19 °C. Среднегодовая относительная влажность воздуха 73% в лесостепи и 72% в степи. Осадки преобладают в северо-восточном регионе: годовое значение равно 380-440 мм. В степной зоне 326-350 мм в год и лесостепной части 400 мм.

Область делится на три климатических зоны: умеренно-засушливая, засушливая, сухая. Водные источники: река Иртыш и мелкие реки и ручейки в весенний период и озера. Летом большая часть ручьев, имеющих снеговое питание, пересыхает. Крупных озер выше 1 км² насчитывается 422. Озера с пресной водой преобладают в северной части и пойме Иртыша [23].

Методы оценки численности и анализа видового состава мелких млекопитающих классифицируют как относительные и абсолютные. Методы относительного учета повсеместно

используются при экологических исследованиях. Результаты исследований дают информацию о численности, половой и возрастной структуре популяций, биотопическом распределении [24]. Климатическое и географическое положения Северного Казахстана предполагает успешное использование метода учетных линий при помощи давилок Геро, ловчих канавок с цилиндрами или конусами [25]. Метод учетных линий применяется в биотопах с разными видами мелких млекопитающих, например, рыжих и узкочерепных полевых, джунгарских хомячков. Метод ловчих канавок используется при подсчете животных, которые не используют норы, например, землеройки и мышовки [26].

При применении давилок располагаются учетные линии количеством кратному 25 (например, 25, 50, 100). Давилки находятся на дистанции до 1 м от стороны линии. В зоне одной среды обитания четные линии находятся на удаленности до 150-200 м друг от друга. Количество учетных линий зависит от численности животных: чем плотность ниже, тем количество линий выше. Учетные линии содержат от 2% изучаемого участка [27]. Величина плашки давилки должна соответствовать размеру животных. Для грызунов и насекомоядных, обитающих в техногенной зоне Северного Казахстана, отвечают давилки размером 6 x 13 см. Материал плашки лучше использовать деревянный или дюралевый, т.к. в регионе резко-континентальный климат. Для ловушки используются приманки из корочки хлеба, кусочка пенопласта или поролона, пропитанные нерафинированным растительным маслом. Ловушки Геро располагаются в местности после обеда и проверяются в первой половине дня. Сбор животных следует проводить как можно раньше во избежание порчи биоматериала.

В Северном Казахстане резко-континентальный климат, поэтому применение давилок бывает часто затруднено из-за осадков. Поэтому помимо ловушек Геро, в нашем полевом исследовании мы использовали ловчие канавки с конусами. Разработал методику учета цилиндрами Деливрон и впервые данный способ был использован Снегиревской Е.М. на территории Башкирского заповедника [28]. В последнее время методика использовалась и дорабатывалась такими исследователями, как Калинин А.А. и другие [29,30].

Для построения ловчей канавки выкапывалась траншея длиной 50 м, глубиной и шириной по 25 см. Для учета грызунов и насекомоядных животных в каждую траншею размещаются по 5 конусов диаметром 25 см и высотой от 50 см. Края конусов совпадают с дном траншеи. Конусы размещаются в 5 метрах от начала и конца траншеи и в 10 метрах от друг друга. Для выживания животного в дне конуса проделывают отверстия для стока воды.

Учетные линии в нашем исследовании размещались на нескольких участках вокруг Kazakhstan Aluminium Smelter (КЭЗ) и Aluminum of Kazakhstan (ПАЗ). Ближайшим к городу является ПАЗ, располагается на удаленности 2 км от города к востоку, электролизный завод находится на удалении 12 км от населенного пункта на юго-восток. Два завода расположены достаточно близко: на расстоянии 9-10 км.

На каждой из зон выставлялись по две учетных линий с давилками и выкапывались по две ловчие канавки с цилиндрами согласно Таблице 1. Таким образом, в техногенной зоне располагались 6 учетных линий с давилками и 6 ловчих канавок.

Таблица 1

Использование давилок и ловчих канавок в районе Kazakhstan Aluminium Smelter (КЭЗ) и Aluminum of Kazakhstan (ПАЗ)

Территория	Использование давилок	Использование ловчих канавок
Импактная зона	ИД1 (ПАЗ), ИД2 (КЭЗ)	ИЛ1 (ПАЗ), ИЛ2 (КЭЗ)
Буферная зона	БД1 (ПАЗ), БД2 (КЭЗ)	БЛ1 (ПАЗ), БЛ2 (КЭЗ)
Фоновая зона	ФД1 (ПАЗ), ФД2 (КЭЗ)	ФЛ1 (ПАЗ), ФЛ2 (КЭЗ)

Во время полевых работ в весенне-летний период 2021 года было освоено 1200 конусо-суток и 6000 давилко-суток в районе двух заводов. В контрольной зоне было проработано 1200 конусо-суток и 6000 давилко-суток согласно Таблице 2. Всего было отловлено 173 особи млекопитающих.

Таблица 2

Количество учетных линий в техногенной зоне

Количество	Дни	Учетные линии	Конусы/давилки
Конусо-сутки в техногенной зоне	40	6	5
Давилко-сутки в техногенной зоне	40	6	25
Конусо-сутки в контрольной зоне	40	6	5
Давилко-сутки в контрольной зоне	40	6	25

Роль индивидуального организма в воспроизводстве разных возрастных групп оценивалась по нескольким критериям: состояние генеративных органов, наличие множественных плодов в матке самки, масса и объем внутренних половых структур самцов, численность плацентарных пятен и желтых тел беременности. По состоянию генеративных органов всех млекопитающих поделили на две функциональные группы: размножающиеся (половозрелые сеголетки и перезимовавшие особи) и не участвующие в размножении (неполовозрелые сеголетки).

Результаты

На прилегающих территориях производств и контрольного участка повсеместно распространены мелкие млекопитающие. В большей части они представлены животными отрядов млекопитающих: грызуны (*Rodentia*) и насекомоядные (*Eulipotyphla*). Распределение и количественные характеристики двух отрядов на техногенной территории и контрольной отличаются. Полный видовой состав животных представлен в таблице 3.

Таблица 3

Компоненты биоразнообразия: число отловленных особей в техногенных зонах и контрольной (в числителе количество особей, особь, в знаменателе обилие особей за 10 сут. лова)

Отряд	Вид	Кол-во в техногенной зоне	Индекс доминирования по Балогу (1958)	Кол-во в контрольной зоне	Индекс доминирования по Балогу (1958)
<i>Rodentia</i>	<i>Microtus levis</i> Miller, 1908	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{1}{0,01}$	0,96
<i>Rodentia</i>	<i>Phodopus sungorus</i> Pallas, 1773	$\frac{3}{0,043}$	4,35	$\frac{2}{0,019}$	1,92
<i>Rodentia</i>	<i>Apodemus uralensis</i> Pall., 1811	$\frac{2}{0,029}$	2,9	$\frac{0}{0}$	0

<i>Rodentia</i>	<i>Micromys minutus</i> Pall., 1771	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{2}{0,019}$	1,92
<i>Rodentia</i>	<i>M. arvalis</i> Pall., 1779	$\frac{5}{0,072}$	7,25	$\frac{9}{0,086}$	8,65
<i>Rodentia</i>	<i>Ellobius talpinus</i> Pall., 1770	$\frac{1}{0,014}$	1,45	$\frac{3}{0,029}$	2,88
<i>Rodentia</i>	<i>Apodemus agrarius</i> Pall., 1771	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{2}{0,019}$	1,92
<i>Rodentia</i>	<i>Microtus oeconomus</i> Pall., 1776	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{3}{0,029}$	2,88
<i>Rodentia</i>	<i>Sicista subtilis</i> Pall., 1773	$\frac{18}{0,261}$	26,1	$\frac{5}{0,048}$	4,81
<i>Rodentia</i>	<i>Lagurus lagurus</i> Pall., 1773	$\frac{3}{0,043}$	4,35	$\frac{7}{0,067}$	6,73
<i>Rodentia</i>	<i>Mictotus gregalis</i> Pal., 1779	$\frac{29}{0,42}$	42	$\frac{49}{0,471}$	47,12
<i>Insectivora</i>	<i>Crocidura suaveolens</i> Pall., 1811	$\frac{1}{0,014}$	1,45	$\frac{0}{0}$	0
<i>Insectivora</i>	<i>Sorex Minitus</i> L., 1766	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{5}{0,048}$	4,81
<i>Insectivora</i>	<i>Sorex araneus</i> L., 1758	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{2}{0,019}$	1,92
<i>Insectivores</i>	<i>Sorex tundrensis</i> Merriam., 1900	$\frac{7}{0,101}$	10,14	$\frac{14}{135}$	13,46
	Σ	69		104	
	Видоразнообразие, $-\sum_{i=1}^k(p_i * \ln(p_i))$	1.635		1.863	
	Выровненность, e $\frac{\sum_{i=1}^k(p_i * \ln(p_i))}{S}$	0.57		0.49	
	Видовое богатство, $\frac{S-1}{\ln N}$	1,889		2.584	

Суммарное обилие мелких млекопитающих, отловленных на техногенной территории (39,9%) значительно меньше, чем на контрольной зоне (60,1%).

Видовой состав в контрольной территории и техногенной практически идентичен, однако есть различия в числовом значении. На территориях рядом с заводами за период исследования было обнаружено 9 видов животных, в контрольной зоне 13 видов. Всего было отмечено 15 видов мелких млекопитающих.

Вблизи заводов мы могли наблюдать увеличение количества особей степной мышовки (26,1 и.д.). Из таблицы 4 мы видим, что наибольшим индексом обилия особей в отлове на всех участках имеет узкочерепная полевка. Обилие видов отражено на рисунке «Ранг/обилие», где виды упорядочены на оси абсцисс. Ось ординат представляет обилие видов (число особей).

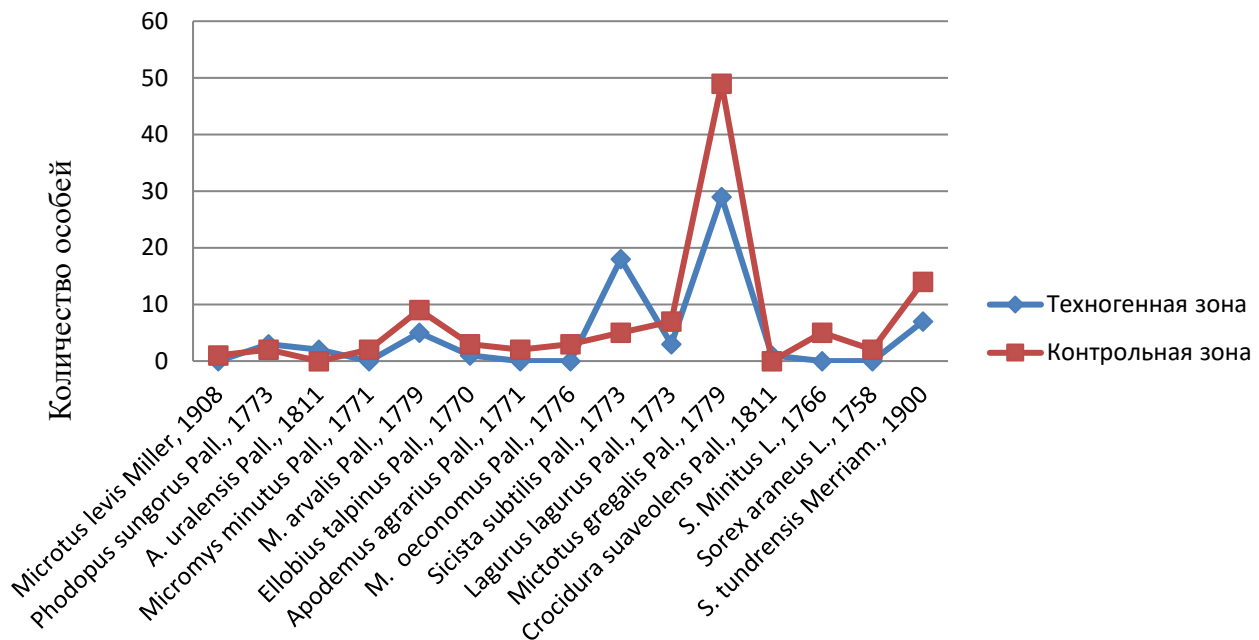


Рисунок 1. Соотношение ранг/обилие видов мелких млекопитающих

Абсолютным доминантом на всех участках является узкочерепная полевка. Однако ее роль в сообществе мелких млекопитающих ниже на территории рядом с заводами (и.д. 42), чем на контрольной территории (и.д. 47,12).

Индекс Маргалефа, принимающий максимальное значение при $S=N$ и показывающий видовое богатство, в контрольной зоне (2,584) выше, чем на участках с антропогенным влиянием (1,889).

Биоразнообразие сообществ определялось при помощи индекса Симпсона. На всех исследуемых участках он был равен 0,25. Таким образом, вероятность межвидовых встреч на обеих зонах примерно равна.

Для оценки распределения видовых обилий мы использовали индекс полидоминантности Симпсона (S_{λ}). На всех территориях значение практически равно: в контрольном участке - 3,956, на исследуемом участке - 3,93. Чем ближе значение S_{λ} к числу видов S , тем выше разнообразие. Можно сделать вывод, что распределение мелких млекопитающих на участках, подвергающихся антропогенной нагрузке, и контрольном одинаково и имеет достаточно низкое разнообразие.

При оценке двух сообществ по видоразнообразию мы использовали индекс Шеннона. Обычно значение варьируется от 1,5 до 3,5. Как мы видим, на территории с техногенной нагрузкой, значение едва преваляло за минимальное стандартное значение (1,635). Обычно сообщества, проживающие в экстремальных условиях с высокой нагрузкой, становятся монодоминантными, что мы можем наблюдать на участках в районе заводов. На основе индекса Шеннона была определена выровненность E (индекс Пиела/ Buzas and Gibson's Index). Обычно индекс Пиела используют для обозначения равномерного распределения видов по их количеству. Результаты показали, что выровненность (e) долевого участия видов на техногенной территории немного выше, чем на контрольном участке.

Результаты репродуктивного анализа показали, что количество самцов, участвующих в размножении на территориях вблизи заводов, выше (67%), чем на контрольной (33%). Похожая ситуация наблюдалась и у самок: на контрольных участках половозрелых особей было меньше (42%), чем на техногенных (58%). Плодовитость самок (число эмбрионов) была ниже также на контрольном участке ($\pm 5,28$) по сравнению с техногенной зоной ($\pm 6,1$).

Обсуждение

Был изучен видовой состав, доленое участие и относительное обилие видов мелких млекопитающих техногенных и фоновых территорий. Число видов отличалось незначительно, однако видовой состав был неодинаков. Различия обусловлены ущербом, нанесенным освоением целинных и залежных земель. Всего за годы целины было распаханно от 25,5 до 41,8 млн. га уникальных ковыльно-типчаковых степей. В результате сократилась площадь степного биотопа, изменилась численность и распространение многих видов сусликов, особенно большого, а также степного сурка байбака [31]. Нарушена естественная среда обитания из-за строительства крупных промышленных объектов, наличие автомагистралей привело к постепенной деградации биотопов Северного Казахстана.

Узкочерепная полевка в Казахстане является серьезным вредителем. Доминирование узкочерепной полевки на двух территориях можно объяснить интенсивным возделыванием зерновых культур в Северном Казахстане.

В техногенной зоне достаточно хорошо распространена степная мышовка. Ареал ее обитания - зоны степей и полупустынь. Следует отметить, что степная мышовка комфортно чувствует себя в малодождливых условиях и при высоких температурах [32]. Можно сделать вывод, что экологические факторы повлияли на распространение данного вида. Глобальное потепление воздуха в XXI веке достигло максимума за последние 120 лет наблюдений. За последние годы относительные отклонения от нормы температуры воздуха плавно возрастали с 0,17 до 0,64 градуса. Поэтому можно говорить о явлении постепенного уменьшения влажности и снижения продуктивности экосистем всей территории Северного полушария, в том числе и Казахстана [33].

Более высокие показатели плодовитости и рождаемости в техногенных территориях по сравнению с контрольными свидетельствуют об адаптации популяции к экстремальным условиям среды (загрязнение воздуха поллютантами). Обычно в популяциях высокая рождаемость свидетельствует о включении эколого-физиологических и поведенческих компенсаторных механизмов как ответа на внешнее негативное воздействие [33].

Заключение

Независимо от влияния антропогенного фактора, у всех групп мелких млекопитающих наблюдаются сезонные смены поколений, возрастные и половые отличия, наличие функциональной классификации животных. Микромамалии можно разделить на перезимовавших размножающихся, неразмножающихся сеголеток, появившихся в осенний период, размножающихся сеголеток. Зимующие организмы подвергаются наибольшей эмиссии.

Экологический анализ популяций мелких млекопитающих позволяет заключить, что в зонах, подверженных загрязнению поллютантов, наблюдается уменьшение видового богатства ($<0,695$) и видоразнообразия ($<0,228$), доминирование узкочерепной полевки (42) и степной мышовки (26,1). В результате совокупности антропогенной нагрузки и глобальных климатических изменений происходит трансформация биоценозов, что отражается на видовом составе и индексе доминирования отдельных хорошо приспособившихся видов. Сообщества млекопитающих трансформируются: появляются типичные виды «антропогенных» ландшафтов

(узкочерепная полевка). Популяции мелких млекопитающих техногенных зон отвечают на негативное воздействие дополнительной элиминацией и, как следствие, интенсивным производством новых особей, что позволяет видам поддерживать нормальное взаимодействие внутри популяций.

Токсическое воздействие выбросов заводов создает негативные условия и одновременно положительную обстановку для быстрого летнего восстановления численности популяций. Такая адаптация приводит к низкой выровненности на участках с антропогенной нагрузкой за счет сеголеток. Поэтому мы можем утверждать, что на территориях, подверженных загрязнению, наиболее успешно акклиматизировались и приспособились виды популяций узкочерепной полевки и степной мышовки.

Список литературы

1. Ахметова З.Б., Кайыржан С. Влияние производства на экологию Павлодарской области // Актуальные тренды в экономике и финансах: Материалы международной научно-практической конференции. – Омск, 2019. – С. 258-264.
2. Сагинтаев Б. Павлодарская область: на волне перемен // Экономика: стратегия и практика. – 2009. – № 1. – С. 48-50.
3. Bloomberg G.R. The influence of environment, as represented by diet and air pollution, upon incidence and prevalence of wheezing illnesses in young children // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology. – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 144-149. DOI: 10.1097/ACI.0b013e3283445950.
4. Mudd J. B. (ed.). Responses of plants to air pollution. – Elsevier, 2012. – P. 161.
5. Коряков А.Е., Шишкина А.А., Шишкина П.А. Воздействие предприятий металлургической промышленности на почву и пути его снижения // Известия ТулГУ. Технические науки. – 2019. – №9. – С. 371-375.
6. Ермолов Ю.В. Особенности аккумуляции химических элементов в биогеохимической пищевой цепи северной части Норильского плато // Геохимия. – 2020. – Т. 65. – №. 5. – С. 499-510.
7. Фадеева Н.С. Тяжелые металлы в окружающей среде // VII Всероссийская культурологическая конференция "Лихачёвские чтения". – Казань, 2016. – С. 205-207.
8. Смоленцева Е.Е., Бобкова Н.Г., Швец Н.И. Некоторые пути поступления экотоксикантов в пищевые цепи северных регионов России // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения. – Тюмень, 2019. – С. 58-62.
9. David I.G. Food chain biomagnification of heavy metals in samples from the Lower Prut Floodplain Natural Park // Environ Eng Manag J. – 2012. – Vol. 11. – №. 1. – P. 69-73.
10. Singh R. Heavy metals and living systems: An overview // Indian journal of pharmacology. – 2011. – Vol. 43. – №. 3. – P. 246.
11. Martiniaková M. Accumulation of Lead, Cadmium, Nickel, Iron, Copper, and Zinc in Bones of Small Mammals from Polluted Areas in Slovakia // Polish Journal of Environmental Studies. – 2012. – Vol. 21. – №. 1. – P. 153-158.
12. Shvets L. The dynamics of changes in morphometric indices of nephrons in white rats and white mice under the influence of the man-made pollutants // Curierul Medical. – 2013. – Vol. 56. – №. 2. – P. 62-67.
13. Essa Z., Hassan A.M. The effect of bismuth chloride on some blood and biochemical parameters in male laboratory rats (Rattus- Rattus) // Basrah Journal of Veterinary Research. – 2013. – Vol. 12. – №. 1. – P. 191-200.
14. Tersago K. Immunotoxicology in wood mice along a heavy metal pollution gradient // Environmental Pollution. – 2004. – Vol. 132. – №. 3. – P. 385-394.
15. Рыспекова Н.Н. Роль тяжелых металлов в развитии анемий (обзор литературы) // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2013. – №. 3 (2). – С. 46-51.

16. Мухачева С.В., Безель В.С. Тяжелые металлы в системе мать–плацента–плод у рыжей полевки в условиях загрязнения среды выбросами медеплавильного комбината // *Экология*. – 2015. – №. 6. – С. 444-444.
17. Gan Y. Source quantification and potential risk of mercury, cadmium, arsenic, lead, and chromium in farmland soils of Yellow River Delta // *Journal of cleaner production*. – 2019. – Vol. 221. – P. 98-107.
18. Kuno R. Reference values for lead, cadmium and mercury in the blood of adults from the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil // *International journal of hygiene and environmental health*. – 2013. – Vol. 216. – №. 3. – P. 243-249.
19. Mukhacheva S.V. Geochemical Ecology of Small Mammals at Industrially Polluted Areas: Is There any Effect of Reduction in the Emissions? // *Geochemistry International*. – 2020. – Vol. 58. – №. 8. – P. 959-967.
20. Starichenko V.I. Hereditary component of variation in ⁹⁰Sr deposition in inbred mice under exogenous conditions that affect bone formation // *Applied Radiation and Isotopes*. – 2018. – Vol. 140. – P. 126-132.
21. Baranovskaya N. Chemical composition of the small mammal reproductive system as an indicator of enterprise technogenic impact on the environment // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2016. – Vol. 43. – №. 1. – P. 012045.
22. Москвитина Н.С., Кохонов Е.В. Некоторые показатели состояния животных из разных популяций красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pall.) Горного Алтая // *Вестник Томского государственного университета // Биология*. – 2012. – №. 2 (18). – С. 186-193.
23. Абылхасанов Т.Ж., Ержанов Н.Т., Сергазинова З.М. Экология мелких млекопитающих Павлодарской области // *Вестник ИргСХА*. – 2017. – №. 83. – С. 152-158.
24. Шефтель Б.И. Методы учета численности мелких млекопитающих // *Russian journal of ecosystem ecology*. – 2018. – №. 3. – P. 1-21.
25. Дубровский В.Ю., Симакин Л.В. Сравнительная оценка двух модификаций учета численности мелких млекопитающих цилиндрами // *Зоологический журнал*. – 2012. – Т. 91. – №. 5. – С. 635-635.
26. Левых А.Ю. К вопросу о населении мелких млекопитающих ФГБУ «Кроноцкий государственный заповедник» // *Вестник Тюменского государственного университета*. – 2014. – Т. 12. – С. 92-102.
27. Jung T.S. Comparative efficacy of Longworth, Sherman, and Ugglan live-traps for capturing small mammals in the Nearctic boreal forest // *Mammal Research*. – 2016. – Vol. 61. – №. 1. – P. 57-64.
28. Монахов С.П. Население мелких млекопитающих (по материалам учетов за 2011-2020 года) Башкирского государственного заповедника // *ББК 20.18+ 28.0 А 43*. – 2020. – С. 231.
29. Kalinin A.A. Residence and nonresidence components of the abundance of common species of small mammals according to counts using life-trap lines // *Zool. Zh.* – 2012. – Vol. 91. – №. 6. – P. 759-768.
30. Бутмырин С.В., Яковлев ВВ., Беспятова Л.А. Линия ловушек для отлова мелких млекопитающих с регистрацией времени срабатывания // *Серия Экспериментальная биология*. – 2021. – №. 3. – С. 103-108.
31. Нурушев М.Ж., Байтанаев О.А., Конысбаева Д.Т. Методы сохранения биоразнообразия фауны млекопитающих (Vertebrata, Mammalia) Казахстана // *Биологическое разнообразие азиатских степей: Материалы III международной научной конференции*. – Костанай, 2017. – С. 36-38.
32. Елина Е.Е., Ленёва Е.А. Видовой состав и биотопическая приуроченность мелких млекопитающих в условиях степей Южного Предуралья // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – Т. 10. – №. 9. – С. 2195-2199.

33. Шевлюк Н.Н. Морфофункциональные особенности размножения мелких млекопитающих в условиях урбанизированной среды обитания на примере г. Оренбурга //Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 2. – С. 201-203.

А.Н. Заканова¹, Н.Т. Ержанов¹, Ю.Н. Литвинов², З.М. Сергазина¹

¹Торайгыров университеті, Павлодар, Қазақстан

²Ресей Ғылым академиясының Жануарлар систематикасы және экологиясы институты,
Новосибирск, Ресей

Солтүстік Қазақстандағы жануарлар популяциясының құрылымына өнеркәсіптік ластанудың әсері

Аңдатпа. Зерттеу Павлодар облысының аумағында 2021 жылдың көктемгі-жазғы кезеңінде жүргізілді. Популяциялар саны, ұсақ сүтқоректілердің жынысы мен жасы зерттелді. Павлодар алюминий және Қазақстан электролиз зауыттарының маңындағы техногенді аумақта Геро қысқыштары мен конустары бар аңшылық жырашықтар пайдаланылды. Зерттеуге 173 жануар, оның ішінде 104 фондық учаскелердегі және 69 техногендік аумақтардағы сүтқоректілер алынды. Жануарлар кеміргіштер мен жәндікқоректілер отрядтарының 15 түріне жатады. Зерттеу нәтижесінде антропогендік факторлар әсеріне ұшыраған учаскелерде түр байлығының (<0,695) және алуантүрліліктің (<0,228) төмендеуі, *Microtus gregalis* (42) және *Sicista subtilis* (26,1) басым болуы байқалды. *Sicista subtilis* мен *Microtus gregalis* зауыттарға жақын жерлерде көбеюге қатысатын еркек тышқандардың саны (67%) бақылаумен салыстырғанда (33%) артқаны байқалды. Бақылау учаскелерінде ұрғашы жыныстық жағынан жетілген дарақтар техногенді дарақтарға (58%) қарағанда аз (42%) болды. Аналықтардың ұрықтылығы (эмбриондар саны) бақылау учаскесінде ($\pm 5,28$) техногендік аймақпен ($\pm 6,1$) салыстырғанда төмен.

Түйін сөздер: ұсақ сүтқоректілер, өнеркәсіп қалдықтары, алуантүрлілік, түрдің таралуы, түр байлығы.

A.N. Zakanova¹, N.T. Yerzhanov¹, Y.N. Litvinov², Z.M. Sergazinova¹

¹Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan

²Institute of Systematics and Ecology of Animals RAS, Novosibirsk, Russia

The impact of industrial pollution on the structure of animal populations in Northern Kazakhstan

Abstract. The study was conducted in the spring-summer period of 2021 on the territory of the Pavlodar region. The authors studied the number of populations, sex, and age belonging of small mammals. Gero crushers and trap grooves with cones were used on the technogenic territory near the Pavlodar aluminum and Kazakhstan electrolysis plants. 173 animals were obtained: 104 in the background areas and 69 in technogenic territories. The animals belong to 15 species of two orders: Rodents and Insectivores. As a result of the research, a decrease in species richness (<0.695) and species diversity (<0.228) was noted, the dominance of *Microtus gregalis* (42) and *Sicista subtilis* (26.1) in areas subject to anthropogenic load was noted. The number of males participating in inbreeding in the territories near factories increases in the steppe mouse and narrow-crusted vole (67%), compared with the control (33%). At the control sites, there were fewer mature females (42%) than at the technogenic ones (58%). The fecundity of females (the number of embryos) is lower in the control area (± 5.28) compared to the technogenic zone (± 6.1).

Keywords: small mammals, industrial emissions, species diversity, alignment, species richness.

References

1. Ahmetova Z.B., Kajyrzhan S. Vliyanie proizvodstva na ekologiyu Pavlodarskoj oblasti [The impact of production on the ecology of the Pavlodar region], Aktual'nye trendy v ekonomike i finansah: Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii [Current trends in economics and finance: Materials of the international scientific and practical conference, Omsk], 258-264 (2019). [in Russian]
2. Sagintaev B. Pavlodarskaya oblast': na volne peremen [Pavlodar region on the wave of changes], Ekonomika: strategiya i praktika [Economics: Strategy and Practice], 1, 66-70 (2009). [in Russian]
3. Bloomberg G.R. The influence of environment, as represented by diet and air pollution, upon incidence and prevalence of wheezing illnesses in young children, Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 11(2), 144-149 (2011).
4. Mudd J. B. (ed.). Responses of plants to air pollution. (Elsevier, 2012, 161 p.).
5. Koryakov A.E., SHishkina A.A., SHishkina P.A. Vozdejstvie predpriyatij metallurgicheskoy promyshlennosti na pochvu i puti ego snizheniya [The impact of metallurgical industry enterprises on the soil and ways to reduce it], Izvestiya TulGU. Tekhnicheskie nauki [News of TulSU. Technical sciences], 9, 371-375 (2019). [in Russian]
6. Ermolov YU.V. Osobennosti akumulirovaniya himicheskikh elementov v biogeohimicheskoy pishchevoj cepi severnoj chasti Noril'skogo plato [Features of accumulation of chemical elements in the biogeochemical food chain of the northern part of the Norilsk plateau], Geohimiya [Geochemistry], 65(5), 499-510 (2020). [in Russian]
7. Fadeeva N.S. Tyazhelye metally v okruzhayushchej srede [Heavy metals in the environment], VII Vserossiyskaya kul'turologicheskaya konferenciya "Likhachevskie chteniya", Kazan' [VII All-Russian Cultural Conference "Likhachev Readings", Kazan], 205-207 (2016). [in Russian]
8. Smolenceva E.E., Bobkova N.G., SHvec N.I. Nekotorye puti postupleniya ekotoksikantov v pishchevye cepi severnykh regionov Rossii [Some ways of ecotoxins entering the food chains of the northern regions of Russia], Aktual'nye voprosy nauki i hozyajstva: novye vyzovy i resheniya, Tyumen' [Current issues of science and economy: new challenges and solutions, Tyumen], 58-62 (2019). [in Russian]
9. David I.G. Food chain biomagnification of heavy metals in samples from the Lower Prut Floodplain Natural Park, Environ Eng Manag J., 11(1), 69-73 (2012).
10. Singh R. Heavy metals and living systems: An overview, Indian journal of pharmacology, 43(3), 246 (2011).
11. Martiniaková M. Accumulation of Lead, Cadmium, Nickel, Iron, Copper, and Zinc in Bones of Small Mammals from Polluted Areas in Slovakia, Polish Journal of Environmental Studies, 21(1), 153-158 (2012).
12. Shvets L. The dynamics of changes in morphometric indices of nephrons in white rats and white mice under the influence of the man-made pollutants, Curierul Medical, 56(2), 62-67 (2013).
13. Essa Z., Hassan A.M. The effect of bismuth chloride on some blood and biochemical parameters in male laboratory rats (Rattus- Rattus), Basrah Journal of Veterinary Research, 12(1), 191-200 (2013).
14. Tersago K. Immunotoxicology in wood mice along a heavy metal pollution gradient, Environmental Pollution, 132(3), 385-394 (2004).
15. Ryspekova N.N. Rol' tyazhelykh metallov v razvitii anemij (obzor literatury) [The role of heavy metals in the development of anemia (literature review)], Vestnik Kazahskogo Nacional'nogo medicinskogo universiteta [Bulletin of the Kazakh National Medical University], 3(2), 46-51 (2013). [in Russian]
16. Muhacheva S.V., Bezel' V.S. Tyazhelye metally v sisteme mat'-placenta-plod u ryzhej polevki v usloviyah zagryazneniya sredy vybrosami medeplavil'nogo kombinata [Heavy metals in the mother-

placenta-fetus system in a red vole under conditions of environmental pollution by emissions from a copper smelter], *Ekologiya* [Ecology], 6, 444-445 (2015). [in Russian]

17. Gan Y. Source quantification and potential risk of mercury, cadmium, arsenic, lead, and chromium in farmland soils of Yellow River Delta, *Journal of cleaner production*, 221, 98-107 (2019).

18. Kuno R. Reference values for lead, cadmium and mercury in the blood of adults from the metropolitan area of Sao Paulo, Brazil, *International journal of hygiene and environmental health*, 216(3), 243-249 (2013).

19. Mukhacheva S.V. Geochemical Ecology of Small Mammals at Industrially Polluted Areas: Is There any Effect of Reduction in the Emissions? *Geochemistry International*, 58(8), 959-967 (2020).

20. Starichenko V.I. Hereditary component of variation in 90Sr deposition in inbred mice under exogenous conditions that affect bone formation, *Applied Radiation and Isotopes*, 140, 126-132 (2018).

21. Baranovskaya N. Chemical composition of the small mammal reproductive system as an indicator of enterprise technogenic impact on the environment, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 43(1), 012045 (2016).

22. Moskvitina N.S., Kohonov E.V. Nekotorye pokazateli sostoyaniya zhivotnykh iz raznykh populyacij krasnoj polevki (*Clethrionomys rutilus* Pall.) Gornogo Altaya [Some indicators of the condition of animals from different populations of the red vole (*Clethrionomys rutilus* Pall.) of the Altai Mountains], *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. [Bulletin of the Tomsk State University. Biology], 2(18), 186-193 (2012). [in Russian]

23. Abylhasanov T.ZH., Erzhanov N.T., Sergazinova Z.M. *Ekologiya melkih mlekopitayushchih pavlodarskoj oblasti* [Ecology of small mammals of Pavlodar region], *Vestnik IrGSKHA* [Bulletin of the IrGSHA], 83, 152-158 (2017). [in Russian]

24. Sheftel' B.I. Metody ucheta chislennosti melkih mlekopitayushchih [Methods of accounting for the number of small mammals], *Russian journal of ecosystem ecology*, 3, 1-21 (2018). [in Russian]

25. Dubrovskij V.YU., Simakin L.V. Sravnitel'naya ocenka dvuh modifikacij ucheta chislennosti melkih mlekopitayushchih cilindrami [Comparative evaluation of two modifications of accounting for the number of small mammals by cylinders], *Zoologicheskij zhurnal* [Zoological journal], 91(5), 635-635 (2012). [in Russian]

26. Levyh A.YU. K voprosu o naselenii melkih mlekopitayushchih FGBU «Kronockij gosudarstvennyj zapovednik» [On the question of the population of small mammals of the FGBU «Kronotsky State Reserve»], *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of the Tyumen State University], 12, 92-102 (2014). [in Russian]

27. Jung T.S. Comparative efficacy of Longworth, Sherman, and Ugglan live-traps for capturing small mammals in the Nearctic boreal forest, *Mammal Research*, 61(1), 57-64 (2016).

28. Monahov S.P. Naselenie melkih mlekopitayushchih (po materialam uchotov za 2011-2020 goda) Bashkirskogo gosudarstvennogo zapovednika [The population of small mammals (based on the records for 2011-2020) of the Bashkir State Reserve], *BBK 20.18+ 28.0 A 43*, 231 (2020). [in Russian]

29. Kalinin A.A. Residence and nonresidence components of the abundance of common species of small mammals according to counts using life-trap lines, *Zool. Zh.*, 91(6), 759-768 (2012).

30. Bugmyrin S.V., YAKovlev V.V., Bespyatova L.A. Liniya lovushek dlya otlova melkih mlekopitayushchih s registraciej vremeni srabatyvaniya [A line of traps for trapping small mammals with the registration of the response time], *Seriya Eksperimental'naya biologiya* [Experimental Biology Series], 3, 103-108 (2021). [in Russian]

31. Nurushev M. ZH., Bajtanaev O. A., Konysbaeva D. T. Metody sohraneniya bioraznoobraziya fauny mlekopitayushchih (Vertebrata, Mammalia) Kazakhstana [Methods of preserving the biodiversity of the mammalian fauna (Vertebrata, Mammalia) Kazakhstan], *Biologicheskoe raznoobrazie aziatskih stepej: Materialy III mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii, Kostanai* [Biological diversity of the Asian steppes: Materials of the III International Scientific Conference, Kostanay], 36-38 (2017). [in Russian]

32. Elina E.E., Lenyova E.A. Vidovoj sostav i biotopicheskaya priurochennost' melkih mlekopitayushchih v usloviyah stepej YUzhnogo Predural'ya [Species composition and biotopic confinement of small mammals in the conditions of the steppes of the Southern Urals], Fundamental'nye issledovaniya [Fundamental research]. 10(9), 2195-2199 (2014). [in Russian]

33. Shevlyuk N.N. Morfofunkcional'nye osobennosti razmnozheniya melkih mlekopitayushchih v usloviyah urbanizirovannoj sredy obitaniya na primere g. Orenburga [Morphofunctional features of reproduction of small mammals in an urbanized habitat on the example of Orenburg], Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Proceedings of the Orenburg State Agrarian University], 2, 201-203 (2014). [in Russian]

Сведения об авторах:

Заканова А.Н. – докторант кафедры биологии и экологии, Университет С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан.

Ержанов Н.Т. – доктор биологических наук, профессор, Университет им. С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан.

Литвинов Ю.Н. – доктор биологических наук Института систематики и экологии животных, Новосибирск, Россия.

Сергазинова З.М. – PhD, Университет С. Торайгырова, г. Павлодар, Казахстан.

Zakanova A.N. – Ph.D. student, Department of Biology and Ecology, Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan.

Yerzhanov N.T. – Doctor of Biology, Professor, Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan.

Litvinov Y.N. – Doctor of Biology, Institute of Systematics and Ecology of Animals, Novosibirsk, Russia.

Sergazinova Z.M. – Ph.D. in Biology, Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan.

И.И. Темрешев^{1*}, Б.К. Копжасаров², З.Б. Бекназарова²,
Ж.М. Исиная², А.Ш. Джанбатыров³

¹ТОО «Учебный научно-производственный центр «Байсерке-Агро», п. Аркабай, Казахстан

²ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиембаева», Алматы, Казахстан

³НАО «Казахский национальный аграрный университет», Алматы, Казахстан

*Автор для корреспонденции: temreshev76@mail.ru

Новые и малоизвестные виды беспозвоночных, повреждающих культурную яблоню (*Malus domestica*) и яблоню сиверса (*Malus sieversii*) на юго-востоке Казахстана. Сообщение 1. Моллюски (Mollusca)

Аннотация. В работе приводятся новые данные о составе, численности и распространении вредной малакофауны яблоневых садов и мест произрастания яблони Сиверса на юго-востоке Казахстана. Всего отмечено 11 вредных видов моллюсков, относящихся к 5 родам из 4-х семейств отряда Stylommatophora класса Gastropoda. Большинство из них (8 видов) относится к семействам Camaenidae и Agriolimacidae (по 4 вида в каждом семействе). Остальные 2 вида относятся к семейству Succineidae и 1 вид – к Geomitridae. В качестве организмов, вредящих культурной яблоне и яблоне Сиверса, ранее не отмечались 4 вида - *Fruticicola almaatini* (Skvortsov, 1940), *Deroceras reticulatum* (O.F. Müller, 1774), *Novisuccinea martensiana* Nevill, 1878 и *Oxyloma elegans* (Risso, 1826). Наиболее многочисленными, вредоносными и распространёнными являются садовая улитка *Fruticicola lantzi* (Lindholm, 1927) и слизень сетчатый *D. reticulatum*. Локальный ущерб при массовом размножении способны причинять улитка *F. almaatini*, янтарка стройная *O. elegans* и желтый слизень *Deroceras sturanyi* (Simroth, 1894). Кроме вышеуказанных брюхоногих, в местах произрастания культурной яблони и яблони Сиверса были отмечены следующие виды моллюсков: *Turanena tenuispira* Schileyko, 1984, *Pseudonapaeus entodon* (E.v. Martens, 1882) (Enidae), *Punctum pygmaeum* (Draparnaud, 1801) (Punctidae), *Zonitoides nitidus* (Müller, 1774) (Gastrodontidae), *Macrochlamys clessini* Westerlund, 1902, *M. turanica* Martens, 1874 (Ariophantidae). Численность их очень невысока, а хозяйственное значение для культурной яблони и яблони Сиверса неизвестно и требует уточнения.

Ключевые слова: моллюски, вредители, яблоня культурная, яблоня Сиверса, Алматинская область.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-29-43

Введение

Гастроподы, или Брюхоногие моллюски (Gastropoda) - самый многочисленный класс в составе типа Моллюсков, или Мягкотелых (Mollusca), включающий около 110 000 видов. В Казахстане отмечено 385 видов гастропод, относящихся к 92 родам и 35 семействам. Наземных моллюсков в Казахстане и смежных территориях известно 194 видов и подвигов из 53 родов и 24 семейств [1, 263; 2, 6]. Экологически гастроподы представлены как обитателями моря, так и пресноводными и наземными видами. В пищевой специализации имеются как растительноядные виды, так и хищники, падальщики и детритофаги. Некоторые имеют смешанное питание. Небольшое число видов является паразитами иглокожих. Наземные гастроподы принимают участие в процессах почвообразования, обогащая почву органическими и минеральными веществами, и служат одним из важных индикаторов состояния почв при проведении почвенно-зоологических исследований. Но они могут и повреждать различные сельскохозяйственные культуры, древесные насаждения, плодовые тела грибов. Вред, причиняемый растениям моллюсками, усугубляется тем, что они могут быть переносчиками

многих фитопатогенных организмов (вирусов, бактерий, грибов), частицы и споры которых в неповрежденном виде проходят через их кишечник. Многие виды брюхоногих служат промежуточными хозяевами паразитических гельминтов человека и домашних животных.

Вредные брюхоногие наносят большой экономический ущерб практически на всех континентах. Например, в Австралии в яблоне-садах они уничтожают от 5 до 10 % урожая яблок. В Северной Америке инвазивные брюхоногие моллюски являются серьезными вредителями сельского хозяйства и садоводства, многие их виды снижают урожайность широкого спектра сельскохозяйственных культур. Поэтому даже в развитых странах приходится тратить значительные суммы на изучение биологии и разработку мер борьбы с некоторыми видами наземных моллюсков, что отражено в публикациях зарубежных ученых как прошлого века, так и последних лет [3, 26; 4, 61; 5, 583; 6, 1-11; 7, 97-1031; 8, 1-14; 9, 383-389]. В Казахстане брюхоногие моллюски также часто наносят значительный ущерб различным сельскохозяйственным культурам и переносят возбудителей гельминтозов [1, 263; 3, 26; 10, 172; 11, 33; 7, 42; 13, 181-212; 14, 13; 15, 125; 16, 147].

Моллюскам, наносящим ущерб культурной яблоне (*Malus domestica*) и её родоначальнику - яблоне Сиверса (*Malus sieversii*), уделяется довольно мало внимания. В учебниках, справочниках по защите растений, статьях, изданных в СССР и постсоветском пространстве, в т.ч. и в Республике Казахстан, в 1950-2020 гг., не фигурируют многие виды моллюсков, которые являются вредителями этих древесных пород. Так, в книге «Вредные животные Средней Азии» гастроподы указаны только как вредители овощных и хлопчатника [10, 172]. К.К. Увалиева в своей монографии приводит 7 видов моллюсков в качестве вредителей плодов-ягодных культур [13, 203-204]. В посвященной вредителям яблони в дикоплодовых лесах и садах Казахстана книге покойного профессора В.А. Кащеева из брюхоногих, повреждающих яблони, указан только Слизень полевой, или пашенный *Deroceras agreste* (Linnaeus, 1758) [14, 13]. В настоящее время некоторые из них получили благоприятные условия для массового размножения и приобретают более существенное хозяйственное значение, чем раньше. Эти факты во многом остаются неизвестными как для многих сельхозтоваропроизводителей, так и для учёных-аграриев. Вышеуказанные причины составляют актуальность и научную новизну исследований.

Материал и методы

Основой для данной работы послужили сборы авторов, сделанные в яблоне-садах на юго-востоке Казахстана (г. Алматы, Алматинская область, Панфиловский район, ТОО «БайсеркеАгро», Енбекшиказахский район, село Байдибек би, КХ «Жемис» и Карасайский район, КХ «Олжас», КХ «Алатау», ГНПП «Иле-Алатау», ущелья Аксай, Тургенъ и Малоалматинское) в рамках выполнения проекта по разработке технологии биологического контроля чешуекрылых вредителей яблони. При проведении учетов вредителей яблони было обращено внимание на повреждения, причиняемые в яблоне-садах моллюсками. Данные по их численности и видовому составу получали общепринятыми методами - ручной сбор, кошение сачком растительности и раскопки почвы на пробных площадках по 0,25 м² [17, 199-202]. Отдельные виды также собирались в ловчих поясах на стволах яблонь, использовавшихся для учёта чешуекрылых вредителей и их энтомофагов. Кроме того, использовались почвенные ловушки оригинальной модификации [18]. Собранных моллюсков подсчитывали и затем фиксировали для последующего определения в 70%-ном спирте. Для идентификации видов и определения информации об их биоэкологических особенностях и распространении использовались источники из списка литературы [2, 389; 4, 61-64; 10, 172; 13, 224; 14, 13; 15, 125; 16, 147].

Результаты и обсуждение

В ходе проведенных обследований в яблоневых садах и дикоплодовых массивах Алматинской области был собран материал по наземным моллюскам из 4-х семейств гастропод. Найденные виды и повреждения, нанесенные ими, представлены на фотографиях (рисунки 1-11). Список видов с краткой характеристикой приведен ниже. Виды, ранее не отмечавшиеся в качестве вредителей яблони, отмечены знаком*.

Тип Mollusca – Моллюски

Класс Gastropoda – Брюхоногие

Отряд Stylommatophora – Стебельчатоглазые

Семейство Camaenidae (Bradybaenidae) – Кустарниковые улитки

Fruticicola almaatini (Skvortzov, 1940)*. Обитает на высотах 800-2300 м над ур. м., на скалах, в крупнообломочных осыпях, в кустарниках и в густой траве остепнённых склонов. Распространение: в Казахстане – хребты Иле-Алатау, Кунгей-Алатау, Терской-Алатау и Киргизский хребет. Вне Казахстана: Киргизия. Кроме повреждения листьев культурной яблони и яблони Сиверса, отмечено поедание листьев и плодов боярышника, барбариса, дикой малины, ежевики и груши.



Рисунок 1. *Fruticicola almaatini*, питание на дикой малине

Fruticicola lantzi (Lindholm, 1927). Обитает как в природных, так и в антропогенных биоценозах – в основном на среднегорных лугах, по берегам ручьев и рек, в узких тенистых ущельях, садах, огородах, палисадниках, полях, откуда может мигрировать на открытые места. В открытых местах днем прячется в различных укрытиях – под камнями, валежником, мусором, в трещинах скал, деревьев и стен построек, либо закапывается в песчаный грунт. При чрезмерной сухости летом может впадать в спячку, закрывая плёнкой отверстие раковины. Питается в основном зелеными высшими растениями, но может поедать и лиственный опад, грибы и лишайники. Причиняет существенный вред садово-огородным и полевым культурам вплоть до полного уничтожения урожая. Переносчик ленточных, плоских и круглых гельминтов – паразитов скота. Распространение: Южный и Юго-Восточный Казахстан (Иле-Алатау, Жетысу-Алатау, Кунгей-Алатау, Чу-Илийские горы, Киргизский хребет, пойма р. Иле. г. Алматы и окрестности, др. населенные пункты Алматинской области с прилегающими территориями), Кыргызстан. Кроме повреждения листьев культурной яблони и яблони Сиверса, отмечено поедание листьев дикой малины, ежевики и груши.



А



Б

Рисунок 2. *Fruticicola lantzi*, А – улитки в почвенной пробе; Б - повреждения листьев

Fruticicola phaeozona (E.V. Martens, 1874). Населяет практически все типы биотопов. Наибольшую плотность улитки образуют под кустами и в крупнообломочных осыпях. Во время летней спячки зарываются в почву или уходят глубоко под камни, зимнюю спячку проводят главным образом в почве на глубине до 10 см. Распространение: Кунгей, Терскей Алатау и Киргизский хребет. Вне Казахстана: Киргизия (Кунгей, Терскей Алатау, Внутренний Тянь-Шань – бассейн реки Нарын, окр. г. Нарын, перевал Долон; Узбекистан, Таджикистан, Западный Китай (восточные склоны Тянь-Шаня) и Северная Индия (Кашмир).



А



Б

Рисунок 3. *Fruticicola phaeozona*, А - улитка в ловчем поясе на стволе яблони Сиверса; Б - повреждения листьев

Fruticicola plectotropis (E.V. Martens, 1864). В период активности, особенно весной, встречается во всех биотопах со степной и луговой растительностью и кустарниками. Наибольшую плотность образует под камнями возле постоянных водотоков. Во время летней и зимней спячки образует скопления в осыпях, щелях скал и под отдельными крупными камнями. Растительноядный вид, иногда вредит плодово-ягодным культурам. Распространение: Южный и Юго-Восточный Казахстан (Иле-Алатау, Кунгей-Алатау Терскей-Алатау, Таласский хребет), Киргизстан, Таджикистан, Узбекистан, Западный Китай, Северная Индия.



Рисунок 4. *Fruticicola plectotropis* А - улитка на стволе яблони Сиверса; Б - в ловчем поясе

Семейство Geomitridae (Hygromiidae) - Геомитриды

Xeropicta candaharica (L. Pfeiffer, 1846) – Степная улитка. Населяет ровные и холмистые степные и полупустынные участки, в сухую погоду образует скопления на стеблях трав. Выше предгорий не поднимается. Повреждает разнообразные сельскохозяйственные, плодовые и лесные культуры. Переносчик трематод и нематод – паразитов домашнего скота. Распространение: в Казахстане – Киргизский и Таласский хребет, Сырдарьинский Каратау, предгорья Иле-Алатау. Вне Казахстана: Киргизия, Узбекистан, Туркмения (восточная часть Копетдага до Ферганского хребта, Чаткальский хребет, Ферганская долина, западная часть Киргизского хребта); северный Афганистан.



Рисунок 5. *Xeropicta candaharica*, А - типичная форма; Б - светлая форма на культурной яблоне

Семейство Agriolimacidae – Агролимациды

Deroceras caucasicum (Simroth, 1901) - Слизень кавказский. Синантропный вид. Обитает обычно в лесах, реже на влажных лугах. В антропогенном ландшафте населяет разнообразные участки - в парках, садах, на полях, огородах, обочинах дорог, свалках, в спальных районах городов на фасадах многоэтажных домов над палисадниками, на газонах и озеленяемых участках детских садов и т.п. Многоядный вредитель, повреждающий разнообразные зерновые, овощные,

кормовые, технические, плодово-ягодные и декоративные культуры, луговые травы, съедобные грибы. Причиняет существенный вред вплоть до полного уничтожения урожая. На поврежденных листьях остаются большие неправильно округлые дыры (чаще всего посередине листа, реже по краю), на плодах - широкие выеденные ямки. Распространение: основной ареал на Кавказе и в Крыму, откуда доходит до Малой Азии и Ирана. Завезен на Украину, в Европейскую часть и Дальний Восток России, в Казахстан, Узбекистан, Таджикистан.



Рисунок 6. *Deroceras caucasicum* на порубочных остатках культурной яблони

Deroceras laeve (O.F. Müller, 1774) - Слизень гладкий, или проворный. Животное очень беспокойное и подвижное (отсюда русское название). Обычными местообитаниями являются болота, берега небольших водоемов, как природных, так и искусственных, где может находиться как на почве, так и на растениях. Обитает также на влажных лугах и в сырых лесах. Довольно долго выдерживает пребывание под водой. Зимуют как яйца, так и слизни разного возраста. Повреждает прорастающие семена, молодые побеги и листья и другие органы растений, мицелий и плодовые тела грибов, листовые пластинки лишайников. Из животных данный вид поедает червей, обитающих в почве личинок, яйца и куколок насекомых, а также трупы животных (преимущественно беспозвоночных). Повреждает зерновые, зернобобовые, технические, овощные, плодово-ягодные, кормовые культуры, луговые травы, съедобные грибы. Один из наиболее холодостойких и влаголюбивых видов слизней. Распространение: холодные и умеренные области Северного полушария. В Казахстане отмечен в Павлодарской (г. Павлодар и его окрестности), Туркестанской (хребет Сырдарьинский Каратау) и Алматинской областях (хребет Иле-Алатау, г. Алматы и его окрестности, завезен). Переносчик фитопатогенов и гельминтов домашнего скота.



Рисунок 7. *Deroceras laeve* на послеуборочных остатках культурной яблони

Deroceras reticulatum (O.F. Müller, 1774) - Сетчатый слизень*. Обитает на открытых биотопах, явно избегая леса и даже кустарников, преимущественно на глинистых почвах. Обычен на лугах, в придорожных канавах, на полях, огородах, пустошах, свалках, а в городах - в парках, садах и на кладбищах. Активен в ночные часы и при влажной погоде. Днём укрывается на почве под кусками древесины, камнями, комками земли и в трещинах почвы. У растений поедает прорастающие семена, молодые побеги, листья, плоды, у грибов - мицелий и плодовые тела. Из животных поедают червей, находящиеся в почве яйца, личинки, иногда и куколки насекомых, а также яйца и молодые особи различных наземных моллюсков. Повреждает зерновые, зернобобовые, технические, овощные, плодово-ягодные, кормовые культуры, съедобные грибы, а также парниковые, тепличные и оранжерейные культуры. Распространение: в Казахстане - завезен в г. Алматы и окружающие районы Алматинской области, хребты Иле-Алатау и Кунгей-Алатау. Европа, Прибалтика, Украина, Европейская часть России, Крым, Кавказ, Закавказье, Киргизстан. Интродуцирован также в Северную и Южную Америку, Австралию, Новую Зеландию, Южную Африку.



Рисунок 8. *Deroceras reticulatum* на порубочных остатках культурной яблони

Deroceras sturanyi (Simroth, 1894) – Слизень желтый. Синантропный вид. Обитает в садах, парках, на огородах, пустошах, лугах, придорожных канавах, в теплицах, парниках, погребках и овощехранилищах. В природе встречается на пойменных лугах и в широколиственных лесах. Зимуют в основном яйца, иногда и отдельные взрослые особи. Спаривание и откладка яиц происходят в середине лета и осенью. Питается зелеными частями растений, плодами и овощами. Вредит многолетним травам, овощным, ягодным и декоративным культурам. Переносчик фитопатогенов и гельминтов домашнего скота. Распространение: изначально обитал в европейской части бывшего СССР, в Казахстан был завезен и интродуцировался в г. Алматы и Алматинской области.



Рисунок 9. *Deroceras sturanyi* на штамбе культурной яблони

Семейство Succineidae – Янтарковые

Novisuccinea martensiana Nevill, 1878 – Янтарка Мартенса*. Наиболее характерные биотопы – мокрые скалы у горных рек и ручьёв, у водопадов; встречается также на альпийских лугах, где придерживается осыпей и скальных выходов, на околородной растительности, в т.ч. деревьях и кустарниках. Распространение: в Казахстане – хребты Иле-Алатау, Кунгей-Алатау, Терской-Алатау, Киргизский хребет. Вне Казахстана: Киргизия (Нарынская область, Киргизский хребет), Синьцзян-Уйгурский автономный район Китая и Тибет.



Рисунок 10. *Novisuccinea martensiana*, повреждающая лист яблони Сиверса

Oxyloma elegans (Risso, 1826) – Янтарка стройная*. Амфибиотический вид. Живет в непосредственном соседстве с водой, на водяных растениях, в болотах, на берегах рек и ручьёв, у самого уреза воды, часто среди прибрежной растительности. Переносит длительное пребывание в воде. Повсеместен и обычен по берегам водоемов, на заливных лугах. Встречается на торчащих из воды или плавающих растениях, на деревьях и кустарниках у воды. Распространение: в Казахстане – хребты Жетысу- и Иле-Алатау, Киргизский хребет, Жамбылская, Павлодарская, Северо-Казахстанская, Акмолинская области. Вне Казахстана: Киргизия, Таджикистан, Узбекистан, Афганистан, Азербайджан, Россия; Западная Европа.



А



Б

Рисунок 11. *Oxyloma elegans*, А – улитка на яблоне Сиверса; Б – повреждения листьев

Кроме вышеупомянутых видов, в яблоневых садах и местах произрастания яблони Сиверса были отмечены такие виды брюхоногих, как *Turanena tenuispira* Schileyko, 1984 и *Pseudonapaeus entodon* (E.v. Martens, 1882) (семейство Enidae), *Punctum pygmaeum* (Draparnaud, 1801) (семейство Punctidae), *Zonitoides nitidus* (Müller, 1774) (Gastrodontidae), *Macrochlamys clessini* Westerlund, 1902 и *M. turanica* Martens, 1874 (семейство Ariophantidae), но численность их была очень невысока, а хозяйственное значение для культурной яблони и яблони Сиверса не выяснено, поэтому в настоящей работе они не рассматриваются. Также не рассматривается слизень полевой, или пашенный *D. agreste*, поскольку о ней имеется достаточно обширная информация в различных источниках [4, 61; 13, 224; 14, 13; 15, 125].

Сводные данные о видовом составе, распространении и численности вредных моллюсков в яблоневых садах и местах произрастания яблони Сиверса на юго-востоке Казахстана приведены в таблице 1.

Таблица 1

Видовой состав, распространение и численность вредных моллюсков в яблоневых садах и местах произрастания яблони Сиверса на юго-востоке Казахстана

Виды моллюсков	Яблоневые сады				ГНПП «Иле-Алатау», яблоня Сиверса			г. Алматы
	ТОО «Байсерке-Агро»	КХ «Олжас»	КХ «Алатау»	КХ «Жемис»	Аксай-ское ущелье	Малоалматинское ущелье	Тургенское ущелье	
<i>Fruticicola almaatini</i>		+		+	++	+++	+	
<i>F. lantzi</i>	+++	+++	++	++	++	+++	++	+++
<i>F. phaeozona</i>	+				++	+	+	
<i>F. plectotropis</i>	+				+	++		
<i>Xeropicta candaharica</i>	+++			+			++	
<i>Deroceras caucasicum</i>	++	+	+	+		+		++
<i>D. laeve</i>	+	+	++		++	+		+
<i>D. reticulatum</i>	+++	+++	++	++	++	+++	+	+++
<i>D. sturanyi</i>	+	++	++	+	+	++	+	+
<i>Novisuccinea martensiana</i>		+			++	++	++	
<i>Oxyloma elegans</i>		++			+++	+++	+	

Примечание: + - численность моллюсков менее 5 экз./м²; ++ - численность моллюсков 5 экз./м²; +++ - численность моллюсков более 5 экз./м² (С учётом того, что экономический порог вредоносности для моллюсков - 5 экз.).

Как видно из данных **таблицы 1**, наибольшую численность и распространение среди выявленных видов моллюсков имеют садовая улитка *F. lantzi* и слизень сетчатый *D. reticulatum*. Они же являются наиболее вредоносными для культурной яблони и яблони Сиверса. Вместе с тем прочие виды в локальных очагах размножения могут наносить довольно значительный ущерб, вызывая изреживание и частичную дефолиацию листьев и повреждая бутоны, завязи и плоды. Например, это касается улитки *F. almaatini*, янтарки стройной *O. elegans* и желтого слизня *D. sturanyi* в местах произрастания яблони Сиверса в ГНПП «Иле-Алатау» или степной улитки *X. candaharica* на культурной яблоне. Хозяйственное значение для культурной яблони и яблони Сиверса 6 вышеуказанных видов из семейств Enidae, Punctidae, Gastrodontidae и Ariophantidae требует дальнейшего изучения и уточнения.

Выводы

Всего в составе малакофауны яблоневого сада и местах произрастания яблони Сиверса на юго-востоке Казахстана отмечено 11 вредных видов моллюсков, относящихся к 5 родам из 4-х семейств отряда Stylommatophora класса Gastropoda. Большинство из них (8 видов) относится к семействам Camaenidae и Agriolimacidae (по 4 вида в каждом семействе). Остальные 2 вида относятся к семейству Succineidae и 1 вид – к Geomitridae. В качестве организмов, вредящих культурной яблоне и яблоне Сиверса, ранее не отмечались 4 вида - *Fruticicola almaatini* (Skvortzov, 1940), *Deroceras reticulatum* (O.F. Müller, 1774), *Novissuccinea martensiana* Nevill, 1878 и *Oxyloma elegans* (Risso, 1826). Наиболее многочисленными, вредоносными и распространенными являются садовая улитка *F. lantzi* и слизень сетчатый *D. reticulatum*. Локальный ущерб при массовом размножении способны причинять улитка *F. almaatini*, янтарка стройная *O. elegans* и желтый слизень *D. sturanyi*.

Следует отметить, что в Казахстане проведение защитных мероприятий по ограничению численности вредных наземных брюхоногих является проблемным вопросом. В старых справочниках по защите растений [11, 33; 12, 42] указываются некоторые средства. Однако в Списке пестицидов (ядохимикатов), разрешенных к применению на территории Республики Казахстан [19], против вредной малакофауны официально не зарегистрировано ни одного препарата-моллюскоцида. В «Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации» [20, 152] имеются 4 препарата против слизней и улиток, но их действующее вещество (метальдегид) обладает нежелательным действием на нецелевые объекты.

Для защиты растительных культур от моллюсков за рубежом применяют следующие мероприятия:

1) Агротехнические меры.

Скашивание густой растительности в наиболее влажных и сырых местах, а после покоса участок следует обработать 10-%ным раствором железного купороса;

Регулярное уничтожение сорняков и уборка всех растительных остатков;

Зяблевая вспашка, рыхление почвы и перекапывание междурядий;

Осушение заболоченных участков;

Прореживание загущенных посадок.

2) Химические меры.

Препараты «Гроза», «Аксела», «Хищник», «Стоп Улит», «Слизнед Нео». Кишечного и контактного действия. Базовое вещество «метальдегид». Класс опасности для человека - 3. Могут представлять опасность для домашних животных (в особенности собак) и детей, и нецелевой фауны. Длительность действия – 2-3 недели;

Препарат «Улицид». Кишечного и контактного действия. Базовое вещество - фосфат железа (после прямого контакта обезвоживает тела слизней, вследствие чего вредители погибают). После истечения срока годности препарат распадается на естественные элементы – железо и фосфор. Умеренно опасен для человека и домашних животных.

3) Биологические меры.

Использование патогенных нематод. Данный метод показал хорошие результаты при лабораторных и полевых испытаниях в Казахстане - на 8-й день после обработки была выявлена эффективность от 50 до 100 % в зависимости от вида моллюска. Кроме того, нематоды могут сохраняться в органических субстратах либо в слегка увлажнённом песке в течение более 8 месяцев и затем продолжать свою полезную деятельность [5, 172; 6, 33; 7, 42; 8, 181-212; 9, 13; 16, 130-131].

Привлечение на участок хищных жуков-жужелиц, жаб, лягушек, полезных птиц, ежей.

В Казахстане данный вопрос требует разработки, как и дальнейшее изучение видового состава и хозяйственного значения моллюсков, обитающих на территории яблоневых садов и в местах произрастания яблони Сиверса.

Финансирование. Работа подготовлена в рамках выполнения проекта АР 09259748 «Разработка технологии биологического контроля яблонной плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* L. и чешуекрылых вредителей яблони с использованием энтомофагов, феромонов и биопрепаратов» ГФ МОН РК.

Список литературы

1. Казенас В.А. Предварительная оценка таксономического состава фауны моллюсков Казахстана // Вестник КазНУ. Серия экологическая. - 2012. - № 1 (33). - С. 263-265.
2. Шилейко А.А., Рымжанов Т.С. Фауна наземных моллюсков Казахстана и сопредельных территорий. – Алматы: Товарищество научных изданий КМК, 2013. - 389 с.
3. Temreshev I.I., Ageenko A.V., Sagit I. Ground malacofauna (Mollusca, Gastropoda) of fields of fodder crops of the Almaty oblast // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Agrarian Sciences. - 2018. - Vol. 4, No 46. - P. 26-36.
4. Васильев В.П. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. Т 1. Вредные нематоды, моллюски, членистоногие. 2-е изд., испр. и доп. - Киев: Урожай, 1987. - 440 с.
5. Christensen C.C., Cowie R.H., Yeung N.W., Hayes K.A. Biological Control of Pest Non-Marine Molluscs: A Pacific Perspective on Risks to Non-Target Organisms // Insects. - 2021. - Vol. 12. - P. 583. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects12070583>.
6. De Ley I.T., Schurkman J., Wilen C., Dillman A.R. Mortality of the invasive white garden snail *Theba pisana* exposed to three US isolates of *Phasmarhabditis* spp (*P. hermaphrodita*, *P. californica* and *P. papillosa*) // PLOS One. - 2020. - Vol. 15 (1). - P. 1-11.
7. Gerlach J., Barker G.M., Bick C.S., Bouchet P., Brodie G., Christensen C.C., Collins T., Coote T., Cowie R.H., Fiedler G.C. et al. Negative impacts of invasive predators used as biological control agents against the pest snail *Lissachatina fulica*: The snail *Euglandina 'rosea'* and the flatworm *Platydemus manokwari* // Biological Invasions. - 2021. - Vol. 23. - P. 97-1031.
8. Jourdan M., Thomann T., Kriticos D.J., Bon M.-C., Sheppard A., Baker G.H. Sourcing effective biological control agents of conical snails, *Cochlicella acuta*, in Europe and north Africa for release in southern Australia // Biological Control. - 2019. - Vol. 134. - P. 1-14.
9. Pradeep Kumar. A Review - On Molluscs as an Agricultural Pest and Their Control // International Journal of Food Science and Agriculture. - 2020. - Vol. 4 (4). - P. 383-389. DOI: 10.26855/ijfsa.2020.12.004.

10. Арнольди Л.В., Борхсениус Н.С. Вредные животные Средней Азии (Справочник). – Москва: Изд-во АН СССР, 1949. – 404 с.
11. Нурмуратов Т.Н., Шек Г.Х. Справочник агронома по защите растений. – Алма-Ата: Кайнар, 1983. – 184 с.
12. Сагитов А.О., Исмухамбетов Ж.Д. Справочник по защите растений. – Алматы: Ронд, 2004. – 320 с.
13. Увалиева К.К. Наземные моллюски Казахстана и сопредельных территорий. – АлмаАта: Наука, 1990. – 224 с.
14. Кашеев В.А. Справочник насекомых-вредителей яблони в дикоплодовых лесах и садах Казахстана. – Алматы, 2010. – 156 с.
15. Темрешев И.И., Есжанов А.Е., Турсынкулов А.М., Макежанов А.М. Дополнительные сведения о видовом составе малакофауны полей кормовых культур Алматинской области // Збірник статей науково-інформаційного центру «Знання» за матеріалами LIX міжнародної науково-практичної конференції: «Розвиток науки в ХХІ столітті», г. Харків: збірник зі статтями (рівень стандарту, академічний рівень). – Харків: науково-інформаційний центр «Знання», 2020. – С. 125-131.
16. Темрешев И.И., Есжанов А.Б., Турсынкулов А.М., Болатбекова Б. Лабораторные испытания биологического препарата Nemaslug против вредных моллюсков, обитающих на посевных площадях ТОО «Байсерке Агро» // Наука, производство, бизнес: современное состояние и пути инновационного развития аграрного сектора на примере Агрохолдинга «Байсерке Агро»: Сборник трудов международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию заслуженного деятеля РК Досмухамбетова Т.М. – Алматы, 2019. – С. 147-152.
17. Фасулати К.К. Полевое изучение наземных беспозвоночных. – Москва: Высшая школа, 1971. – 424 с.
18. Темрешев И.И., Есенбекова П.А., Сарсенбаева Г.Б. Новая модель почвенной ловушки из дешевых, прочных и доступных материалов (произведение науки). – Свидетельство о госрегистрации на объект авторского права Республики Казахстан № 2483 от 23.11.2016 г. ИС 006634.
19. Справочник пестицидов (ядохимикатов), разрешенных к применению на территории Республики Казахстан. – Алматы: ИП «Успех», 2018, 211 с.
20. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. – Москва: Минсельхоз России, 2021. – 803 с.

И.И. Темрешев¹, Б.К. Копжасаров², З.Б. Бекназарова², Ж.М. Исина², А.Ш. Джанбатыров³

¹«Байсерке-Агро» оқу ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС, Арқабай кенті, Қазақстан

²«Ж. Жиенбаева атындағы Өсімдіктерді қорғау және карантин Қазақ ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан

³«Қазақ ұлттық аграрлық университеті» КеАҚ, Алматы, Қазақстан

**Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы мәдени алма ағашы (*Malus domestica*) мен
Сиверс алма ағашы (*Malus sieversii*) зақымдайтын омыртқасыздардың жаңа және аз белгілі
түрлері. Хабарлама 1. Моллюскалар (Mollusca)**

Аңдатпа. Мақалада алма бақтарының зиянды ұлулар фаунасының құрамы, саны, таралуы және Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы Сиверс алмасының өсетін жерлері туралы жаңа мәліметтер келтірілген. Stylommatophora отряды Gastropoda класы 4-тұқымдасының 5- туысына жататын ұлулардың 11 зиянды түрі келтірілген. Олардың ішінде (8 түрі) Camaenidae және Agriolimacidae тұқымдасына жататын (әрбір тұқымдастың 4 түрі), ал қалған 2 түрі Succineidae

тұқымдасына және 1 түрі Geomitridae тұқымдасына жатады. Мәдени алма мен Сиверс алма ағашына зиян келтіретін организмдер ретінде олардың 4 түрі бұрын тіркелмеген - *Fruticicola almaatini* (Skvortzov, 1940), *Deroceras reticulatum* (O. F. Müller, 1774), *Novisuccinea martensiana* Nevill, 1878 және *Oxyloma elegans* (Risso, 1826). Бұлардың ішінде ең көп таралған және зиянды түрлері - бақша ұлуы *Fruticicola lantzi* (Lindholm, 1927) және торлы ұлу *D. reticulatum*. Ұлулар жаппай көбейген кезде - *F. almaatini*, жіңішке янтарка *O. elegans* және сары былқылдақ денелі *Deroceras sturanyi* (Simroth, 1894). түрлері жергілікті зиян келтіреді. Жоғарыда аталған бауырақтылар басқа, мәдени алма мен Сиверс алма ағаштарының өсу орындарында моллюскалардың келесі түрлері байқалды: *Turanena tenuispira* Schileyko, 1984, *Pseudonapaeus entodon* (E.V. Martens, 1882) (Enidae), *Punctum pygmaeum* (Draparnaud, 1801) (Punctidae), *Zonitoides nitidus* (E.V. Martens, 1882) (Gastrodontidae), *Macrochlamys clessini* Westerlund, 1902, *M. turanica* Martens, 1874 (Ariophantidae). Олардың саны өте төмен, ал алма мен Сиверс алма ағашы үшін шаруашылық маңызы белгісіз және нақтылауды қажет етеді.

Түйін сөздер: ұлу, зиянкес, мәдени алма, Сиверс алмасы, Алматы облысы.

I.I. Temreshev¹, B.K. Kopzhasarov², Z.B. Beknazarova², J.M. Isina², A.S. Dzhanbatyrov³

¹LLC "Educational Research and Production Center "Bayserke-Agro", Arkabai village, Kazakhstan

²LLC "Kazakh Scientific Research Institute of Plant Protection and Quarantine named after Zh. Zhiembayev", Almaty, Kazakhstan

³NJSC "Kazakh National Agrarian University", Almaty, Kazakhstan

New and little-known invertebrate species that damage the cultivated apple tree (*Malus domestica*) and the sivers apple tree (*Malus sieversii*) in the southeast of Kazakhstan. Message 1. Mollusca

Abstract. The article presents new data on the composition, abundance, and distribution of harmful malacofauna of apple orchards and Sivers apple tree growing areas in the southeast of Kazakhstan. In total, 11 harmful species of mollusks belonging to 5 genera from 4 families of the Stylommatophora order of the Gastropoda class were noted. Most of them (8 species) belong to the families Camaenidae and Agriolimacidae (4 species in each family). The remaining 2 species belong to the Succineidae family and 1 species belongs to the Geomitridae. 4 species - *Fruticicola almaatini* (Skvortzov, 1940), *Deroceras reticulatum* (O. F. Müller, 1774), *Novisuccinea martensiana* Nevill, 1878 and *Oxyloma elegans* (Risso, 1826) - were not previously noted as organisms that harm the cultivated apple tree and the Sivers apple tree. The most numerous, harmful and widespread are the garden snail *Fruticicola lantzi* (Lindholm, 1927) and the reticulated slug *D. reticulatum*. Local damage during mass reproduction can be caused by the snail *F. almaatini*, the slender amber O. In addition to the above-mentioned gastropods, the following species of mollusks have been observed in the growing areas of cultivated apple and Sivers apple trees: *Turanena tenuispira* Schileyko, 1984, *Pseudonapaeus entodon* (E.V. Martens, 1882) (Enidae), *Punctum pygmaeum* (Draparnaud, 1801) (Punctidae), *Zonitoides nitidus* (Müller, 1774) (Gastrodontidae), *Macrochlamys lessini* Westerlund, 1902, *M. turanica* Martens, 1874 (Ariophantidae). Their number is very low, and the economic significance for the cultivated apple and Sivers apple trees is unknown and requires clarification.

Keywords: Shellfish, pests, cultural apple tree, Sivers apple tree, Almaty region.

References

1. Kazenas V.L. Predvaritel'naya ocenka taksonomicheskogo sostava fauny mollyuskov Kazakhstana, Vestnik KazNU. Seriya ekologicheskaya [Preliminary assessment of the taxonomic composition of the mollusk fauna of Kazakhstan, Bulletin of the Treasury. The series is ecological], 1(33), 263-265 (2012). [in Russian]
2. SHilejko A.A., Rymzhanov T.S. Fauna nazemnyh mollyuskov Kazakhstana i sopredel'nyh territorij [Fauna of terrestrial mollusks of Kazakhstan and adjacent territories]. (Almaty, Tovarishchestvo nauchnyh izdanij KMK, 2013, 389 p.). [in Russian]
3. Temreshev I.I., Ageenko A.V., Sagit I. Ground malacofauna (Mollusca, Gastropoda) of fields of fodder crops of the Almaty oblast, News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Agrarian Sciences, 4(46), 26-36 (2018).
4. Vasil'ev V.P. Vrediteli sel'skohozyajstvennyh kul'tur i lesnyh nasazhdenij. T 1. Vrednye nematody, mollyuski, chlenistonogie. 2-e izd., ispr. i dop. [Pests of agricultural crops and forest plantations. T 1. Harmful nematodes, mollusks, arthropods. 2nd ed., ispr. and add.]. (Kiev, Urozhaj, 1987, 440 p.). [in Russian]
5. Christensen C.C., Cowie R.H., Yeung N.W., Hayes K.A. Biological Control of Pest Non-Marine Molluscs: A Pacific Perspective on Risks to Non-Target Organisms, Insects, 12, 583 (2021). DOI: <https://doi.org/10.3390/insects12070583>.
6. De Ley I.T., Schurkman J., Wilen C., Dillman A.R. Mortality of the invasive white garden snail *Theba pisana* exposed to three US isolates of *Phasmarhabditis* spp (*P. hermaphrodita*, *P. californica* and *P. papillosa*), PLOS One, 15(1), 1-11 (2020).
7. Gerlach J., Barker G.M., Bick C.S., Bouchet P., Brodie G., Christensen C.C., Collins T., Coote T., Cowie R.H., Fiedler G.C. et al. Negative impacts of invasive predators used as biological control agents against the pest snail *Lissachatina fulica*: The snail *Euglandina 'rosea'* and the flatworm *Platydemus manokwari*, Biological Invasions, 23, 97-103 (2021).
8. Jourdan M., Thomann T., Kriticos D.J., Bon M.-C., Sheppard A., Baker G.H. Sourcing effective biological control agents of conical snails, *Cochlicella acuta*, in Europe and north Africa for release in southern Australia, Biological Control, 134, 1-14 (2019).
9. Pradeep Kumar. A Review - On Molluscs as an Agricultural Pest and Their Control, International Journal of Food Science and Agriculture, 4(4), 383-389 (2020). DOI: [10.26855/ijfsa.2020.12.004](https://doi.org/10.26855/ijfsa.2020.12.004).
10. Arnol'di L.V., Borhsenius N.S. Vrednye zhivotnye Srednej Azii (Spravochnik) [Harmful animals of Central Asia (Handbook)]. (Moskva, Izd-vo AN SSSR, 1949, 404 p.). [in Russian]
11. Nurmuratov T.N., SHek G.H. Spravochnik agronoma po zashchite rastenij [Handbook of agronomist on plant protection]. (Alma-Ata, Kajnar, 1983, 184 p.). [in Russian]
12. Sagitov A.O., Ismuhambetov ZH.D. Spravochnik po zashchite rastenij [Handbook of plant protection]. (Almaty, Rond, 2004, 320 p.). [in Russian]
13. Uvalieva K.K. Nazemnye mollyuski Kazakhstana i sopredel'nyh territorij [Terrestrial mollusks of Kazakhstan and adjacent territories]. (Alma-Ata, Nauka, 1990, 224 p.). [in Russian]
14. Kashcheev V.A. Spravochnik nasekomyh-vreditel'ey yabloni v dikoplodovyh lesah i sadah Kazakhstana [Handbook of insect pests of apple trees in wild-fruit forests and gardens of Kazakhstan]. (Almaty, 2010, 156 p.). [in Russian]
15. Temreshev I.I., Eszhanov A.E., Tursynkulov A.M., Makezhanov A.M. Dopolnitel'nye svedeniya o vidovom sostave malakofauny polej kormovyh kul'tur Almatinskoj oblasti, Zbirnik statej naukovno-informacijnogo centru «Znannya» za materialami LIX mizhnarodnoï naukovno-praktichnoï konferencii: «Rozvitok nauki v XXI stolitti», g. Harkiv: zbirnik zi stattyami (riven' standartu, akademichnij riven'), Kharkiv [Additional information about the species composition of malakofauna fields of fodder crops of the Almaty region, collection of articles of the scientific and Information Center "Znanie" based on the materials of the LIX international scientific and practical conference:

"development of Science in the XXI century", Kharkiv: collection with articles (standard level, academic level), Har'kov], 125-131 (2020). [in Ukrainian]

16. Temreshev I.I., Eszhanov A.B., Tursynkulov A.M., Bolatbekova B. Laboratornye ispytaniya biologicheskogo preparata Nemaslug protiv vrednyh mollyuskov, obitayushchih na posevnyh ploshchadyah TOO «Bajserke Agro», Nauka, proizvodstvo, biznes: sovremennoe sostoyanie i puti innovacionnogo razvitiya agrarnogo sektora na primere Agroholdinga «Bajserke Agro»: Sbornik trudov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, posvyashchennoj 70-letiyu zasluzhennogo deyatelya RK Dosmukhambetova T.M., Almaty [Laboratory tests of the biological drug Nemaslug against harmful mollusks living on the acreage of "Bayserke Agro" LLP, Science, production, business: the current state and ways of innovative development of the agricultural sector on the example of the Agroholding "Bayserke Agro": Collection of works International scientific and practical conference dedicated to the 70th anniversary of the Honored Worker of the Republic of Kazakhstan Dosmukhambetov T.M., Almaty], 147-152 (2019). [in Russian]

17. Fasulati K.K. Polevoe izuchenie nazemnyh bespozvonochnyh [Field study of terrestrial invertebrates]. (Moskva, Vysshaya shkola, 1971, 424 p.). [in Russian]

18. Temreshev I.I., Esenbekova P.A., Sarsenbaeva G.B. Novaya model' pochvennoj lovushki iz deshevyh, prochnykh i dostupnykh materialov (proizvedenie nauki). - Svidetel'stvo o gosregistracii na ob'ekt avtorskogo prava Respubliki Kazahstan № 2483 ot 23.11.2016 g. IS 006634. [A new model of a soil trap made of cheap, durable and affordable materials (a work of science). - Certificate of state registration for the copyright object of the Republic of Kazakhstan No. 2483 dated 11/23/2016. IS 006634]. [in Russian]

19. Spravochnik pesticidov (yadokhimikatov), razreshennykh k primeneniyu na territorii Respubliki Kazahstan [Handbook of pesticides (pesticides) approved for use on the territory of the Republic of Kazakhstan]. (Almaty, IP «Uspek», 2018, 211 p.). [in Russian]

20. Gosudarstvennyj katalog pesticidov i agrokhimikatov, razreshennykh k primeneniyu na territorii Rossijskoj Federacii [State catalog of pesticides and agrochemicals approved for use in the territory of the Russian Federation]. (Moskva, Minsel'hoz Rossii, 2021, 803 p.). [in Russian]

Сведения об авторах:

Темрешев И.И. – к.б.н., ведущий научный сотрудник, TOO «Учебный научно-производственный центр «Байсерке-Агро», п. Аркабай, Казахстан.

Копжасаров Б.К. – к.б.н., заведующий отделом, TOO «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиенбаева», Алматы, Казахстан.

Бекназарова З.Б. – PhD, ведущий научный сотрудник, TOO «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиенбаева», Алматы, Казахстан.

Исина Ж.М. – ведущий научный сотрудник, TOO «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиенбаева», Алматы, Казахстан.

Джанбатыров А.Ш. – докторант, НАО «Казахский национальный аграрный университет», Алматы, Казахстан.

Temreshev I.I. – Ph.D., Leading Researcher, LLP "Educational Research and Production Center "Bayserke-Agro", Arkabay, Kazakhstan.

Kopzhasarov B.K. – Ph.D., Head of the Department, LLP "Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine named after Zh. Zhiembayev", Almaty, Kazakhstan.

Beknazarova Z.B. – Ph.D., Leading Researcher, LLP "Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine named after Zh. Zhiembayev", Almaty, Kazakhstan.

Isina Zh.M. – Leading Researcher, "Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine named after Zh. Zhiembayev", Almaty, Kazakhstan.

Dzhanbatyrov A.S. – Ph.D. student, Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan.

А.П. Муранец¹, А.К. Есимсеитова¹, Д.А. Дюсембекова¹, А.С. Нуртаза¹,
К.Р. Калыбаев², К.З. Кожанов³, А.А. Какимжанова^{1*}

¹Национальный центр биотехнологии, Нур-Султан, Казахстан

²Сайрам-Угамский государственный национальный природный парк, Шымкент, Казахстан

³Баянаульский государственный национальный природный парк, Баянаульский с. о., Казахстан

*Автор для корреспонденции: kakimzhanova@biocenter.kz

Изучение биоразнообразия дикоросов рода *Rosa* L. в Казахстане и их молекулярно-генетическая идентификация

Аннотация. Сокращение биологического разнообразия – одна из важнейших проблем современности. Дикорастущие растения являются не только источником генетических ресурсов, но и имеют большое значение для экономики. К числу наиболее значимых плодовых растений Казахстана относятся дикорастущие виды рода *Rosa* L. Род шиповник (*Rosa* L.) относится к многолетним растениям семейства Розоцветные (*Rosaceae*). В Казахстане произрастает более 20 дикорастущих видов шиповника. В современном растениеводстве шиповник используется как лекарственное, пищевое и декоративное растение. Определение видового состава, его морфологических и генетических особенностей является основой рационального использования растительных ресурсов. Целью наших исследований было изучение биоразнообразия растений рода *Rosa* L. на основе морфологических особенностей растений и их молекулярное генотипирование. В этом исследовании мы определили 6 видов растений рода: *Rosa kokanica* (REGEL) REGEL ex JUZ., *Rosa spinosissima* L., *Rosa majalis* Herrm. (*Rosa cinnamomea* L.), *Rosa acicularis* L., *Rosa laxa* Retz, *Rosa canina* L. по морфологическим характеристикам и провели идентификацию с использованием хлоропластного маркера *rbcl*. Полученные данные могут быть использованы для сравнительного изучения биоразнообразия растений шиповника.

Ключевые слова: *Rosa* L., систематика, биоразнообразие, идентификация, *rbcl*, филогения.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-44-60

Введение

Сохранение биоразнообразия представителей дикорастущей флоры является актуальной задачей для Казахстана. К числу наиболее значимых плодовых растений Казахстана относятся дикорастущие виды рода *Rosa* L. Это – полиморфный род, обладающий способностью образовывать многочисленные межвидовые гибриды и мелкие локальные, наследственно закрепленные единицы. Вследствие этого морфологические признаки видов часто нечетки и трудно классифицируются. В народе культурные сорта и формы этого рода с махровыми цветками по традиции называют розами, а дикорастущие и немахровые сорта культивируемых роз – шиповниками. Центрами происхождения шиповника считаются китайско-японский и связанный с ним флористический район Средней Азии, а также переднеазиатский центр [1]. В мировой флоре насчитывается, по разным данным, от 250 до 400 видов, и до 25000 садовых форм и сортов рода *Rosa* L. В Республике Казахстан произрастает более 20 видов шиповника (розы) и несравненно больше сортов встречается в культуре [2, 3]. Родовое название – шиповник происходит от кельтского слова «rhodd» – красный, из-за окраски цветков и плодов. Русское название образовано от слова «шип», что на древнеславянском обозначает иглу или колючку. Народное название «свороборина», произошло от слова «боровс» – «зуд», из-за волосистости семян, их вкусовых качеств.

О лечебном использовании различных частей растения (плодов, листьев, цветов, корней) шиповника известно издавна. Врачи многих стран знали о противовоспалительных свойствах плодов шиповника. Еще Авиценна рекомендовал его при шуме в голове и зубной боли, отеках в горле и тонзиллите [4].

Шиповник – одно из важнейших витаминных растений в современном выращивании лекарственных трав. По содержанию витамина С (в семенах – 4,8%, в мякоти – до 8,5%) он не имеет себе равных среди плодово-ягодных культур [5,6]. Кроме того, плоды шиповника содержат Р-активные соединения (до 9%), витамин Е (6-10 мг / 100 г), В1, В2, В9, каротин, дубильные вещества, пектин, соединения азота, флавоноиды, сахар, органические кислоты, жиры и многие микроэлементы кроветворного комплекса: Fe, Mg, Ca, K, Cu, Zn. Семена содержат до 12% жирных кислот [7,8], рубиксантин, газаниаксантин, β-криптоксантин и зеаксантин [9,10] и фенольные соединения, такие как кверцетин, эллаговая кислота, гликозиды кверцетина, гидроксикоричные кислоты, проантоцианидин, агликоны [11].

Плоды и семена шиповника содержат большое количество важных диетических антиоксидантов. Высокая антиоксидантная активность в основном связана с аскорбиновой кислотой, содержание которой обычно колеблется от 3 г/кг до 40 г/кг, что значительно больше, чем у любых других общедоступных фруктов [12]. Тритерпеновые кислоты, присутствующие в плодах шиповника, известны своими иммуномодулирующими свойствами [13]. Биологически активные соединения, содержащиеся в плодах и семенах шиповника, защищают организм человека от гриппа, фарингита и легочных заболеваний [14], снимают симптомы ревматоидного артрита [15]. Обладая противовирусным и противоопухолевым действием, препараты из шиповника проявляют способность подавлять пролиферацию раковых клеток [16,17]. Неочищенный метанольный экстракт плодов *Rosa canina* (RC) был протестирован учеными против штаммов бактерий с множественной лекарственной устойчивостью и показал ингибирование конъюгации бактериальных плазмид, что открывает возможность комбинированной терапии для преодоления устойчивости к антибиотикам [18].

В настоящее время особую актуальность имеют исследования по изучению биоразнообразия и разработке методов сохранения растений, ареалы и численность которых резко снижаются [19]. Традиционные критерии для оценки видов, зачастую недостаточны, поэтому актуальным является изучение дикорастущей флоры путем сравнительного анализа определения видов с использованием не только ботанических, но и молекулярно-генетических подходов. Попытки идентификации видов шиповника на сравнительном описании морфологических и экологических характеристик, таких как среда обитания, форма листьев, расположение шипов, строение и цвет цветков и плодов зачастую дают неоднозначные результаты из-за большого количества естественных и искусственных скрещиваний видов *Rosa L.* Поэтому в настоящее время в таксономических и флористических исследованиях широко используются маркеры *ITS2* [20], *matK* [21], *rbcL* [22], и *trnH* [23] как специфические гены для растений. Эффективность молекулярно-генетических маркеров варьирует в зависимости от вида растений. Для растения *Rosa damascena L.* маркеры *rbcL*, *t-rnH* и *matK* были более эффективными локусами по качеству последовательности и способности различать вид, чем *ITS2* по геному *Rosa* [24].

Целью наших исследований было изучение биоразнообразия растений рода *Rosa L.* в ГНПП «Баянаул», «Сайрам-Угам», «Бурабай», Беркаринском комплексном заказнике, изучение морфологических особенностей растений и молекулярное генотипирование собранных образцов растений. В задачи исследований входило определение видов растений рода *Rosa L.* по морфологическим характеристикам и идентификация с использованием локуса *rbcL*.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе Национального центра биотехнологии города Нур-Султан в лаборатории биотехнологии и селекции растений. Объектами исследований были растения рода *Rosa L.* Сбор растительного материала и морфологическое описание проводились по общепринятым методам флористических исследований. При определении вида растений использовались определители [2, 25].

Для анализа мы в основном выбрали признаки, традиционно используемые для диагностики видов шиповника в таксономических исследованиях и идентификационных ключах. Морфологическая характеристика растений изучалась визуально, информацию о таких признаках, как цвет лепестков, плодов, расположение шипов, шиповатость стебля, отмечали непосредственно в поле с помощью цифрового устройства. Также в задачи исследований входило создание гербарного материала.

Для выделения ДНК были использованы свежие листья растений. Для исследований использовался метод СТАВ [26]. Очищенная ДНК была использована для ПЦР амплификации с использованием универсальных *rbcL* праймеров. Реакционная смесь включала 1,5 мкл прямого и обратного праймера, 5 мкл геномной ДНК, 7 мкл ПЦР буфера и 15 мкл стерильной деионизированной воды. Праймеры, используемые для амплификации *rbcL* локуса, включали прямой (5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3') и обратный (5'-GTAAAATCAAGTCCACCA CG-3') по протоколу Costion C. и др., 2011 [27]. После смешивания компонентов дальнейшую реакцию проводили в амплификаторе: предварительная денатурация при 95°C в течение 4 мин; денатурация при 95°C – 40 сек., отжиг при 55°C – 40 сек., элонгация при 72°C – 1 мин; количество циклов – 35. Окончательная элонгация в течение 4 минут при 72°C на амплификаторе *Eppendorf MasterCycler Pro* (Германия). Затем проводили электрофорез в 1,5%-ном агарозном геле и фотографировали в УФ-свете на приборе *GelDoc XR (BioRad, США)*. Электрофорез проводили в камере для горизонтального электрофореза в 1xTAE буфере. В дальнейшем проводили очистку реакционной смеси ферментами *Sap* и *ExoI (Thermo scientific)*. Реакционная смесь включала буфер 1x*Sap*, 10 мкл ПЦР продукта, 3 ед. экзонуклеазы *ExoI*, 1 ед. щелочной фосфатазы *Sap* при 37°C в течение 30 минут, с последующей инактивацией фермента при 75°C в течение 15 минут. Секвенирование ПЦР продукта проводили на приборе *ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1* с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе от *Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer*.

В результате секвенирования нуклеотидные последовательности проанализированных образцов были собраны и обработаны при помощи программы *SeqMan* [28]. Автоматическое выравнивание и построение дерева по методу максимального правдоподобия проводились с помощью программы *MEGA5* [29] и метода ближайших соседей *Neighbour-joining* [30] с функцией «бутстрап» на 1000 повторений [31]. Генетические расстояния между популяциями рассчитывались с использованием метода максимального правдоподобия [32].

Результаты и обсуждение

Сохранение биологического разнообразия – важная проблема современности [33, 34]. Для оптимизации сохранения генетического разнообразия на уровне популяций необходимы молекулярно-генетическая идентификация и сертификация генофондов редких и исчезающих видов растений [35].

Научные исследования в Республике Казахстан изучения рода *Rosa L.* проводились в основном по изучению ареалов произрастания, морфологическому описанию видов этого рода, а также использованию сырья из генеративных органов этих растений в пищевой и

фармацевтической промышленности [36, 37, 38]. Нами был собран растительный материал образцов шиповника в ГНПП «Сайрам-Угам», Беркаринском комплексном заказнике, ГНПП «Баянаул», «Бурабай» (таблица 1).

Таблица 1

Место сбора видов растений рода *Rosa* L.

№ п/п	Вид растения	Жизненная форма	Место-обитание	Место сбора	Координаты-долгота	Координаты-широта	Высота над уровнем моря, м
Секция <i>Pimpinellifoliae</i> DC.							
1	Шиповник кокандский (<i>Rosa kokanica</i> (REGEL) JUZ.)	Кустарник	Предгорья, по степным склонам	Туркестанская область, Толебийский р-н, ГНПП «Сайрам-Угам», популяция 1	070°23.029'	42°10.060'	1731
2	Шиповник кокандский (<i>Rosa kokanica</i> (REGEL) JUZ.)			Туркестанская область, Толебийский р-н, ГНПП «Сайрам-Угам», популяция 2	070°23.607'	42°09.655'	1735
3	Шиповник колючейший (<i>Rosa spinosissima</i> L.)	Кустарник	На склонах гор	Павлодарская область, Баянаульский район, ГНПП «Баянаул»	075°41.946'	50°48.610'	500
Секция <i>Sinpatomeae</i> DC.							
4	Шиповник коричный (<i>Rosa sinpatomea</i> L.)	Кустарник	Опушка леса	Павлодарская область, Баянаульский район, ГНПП «Баянаул»	075°44.946'	50°48.612'	497
5	Шиповник иглистый (<i>Rosa acicularis</i> L.)	Кустарник	У берега реки	Павлодарская область, Баянаульский район, ГНПП «Баянаул»	075°41.367'	50°49.357'	519
6	Шиповник рыхлый (<i>Rosa laxa</i> Retz.)	Кустарник	Лесные опушки	Акмолинская область, Бурабайский район, ГНПП «Бурабай»	070°24.384'	53°08.365'	497

Секция <i>Caninae</i> Crép.							
7	Шиповник собачий (<i>Rosa canina</i> L.)	Кустарник	Берега рек	Жамбыльская область, Беркаринский комплексный заказник	070°36' 56'	42°54' 11'	555

Ботаническое описание основывалось на окраске стебля, форме шипов, расположении шипов на растении, типе листьев, крае листочков, особенностях строения цветка, форме и цвете цинародия (Таблица 2).

Шиповники – это многолетние листопадные кустарники. На стеблях имеются шипы – эпидермальные образования, относительно мягкие в начале вегетации, но затем становятся твердыми. Листорасположение на растении очередное, листья непарноперисто-сложные, имеются прилистники. Цветки могут быть одиночными или в рыхлых соцветиях. Окраска лепестков различная – от белого до темно-красного. Цинародий, или ложный плод шиповника, состоит из разросшегося цветоложа, который содержит настоящие плоды-орешки. Для простоты изложения материала ложные плоды шиповника принято называть плодами. Внутренняя оболочка цинародия покрыта многочисленными волосками. Плоды-орешки обычно созревают в августе-сентябре.

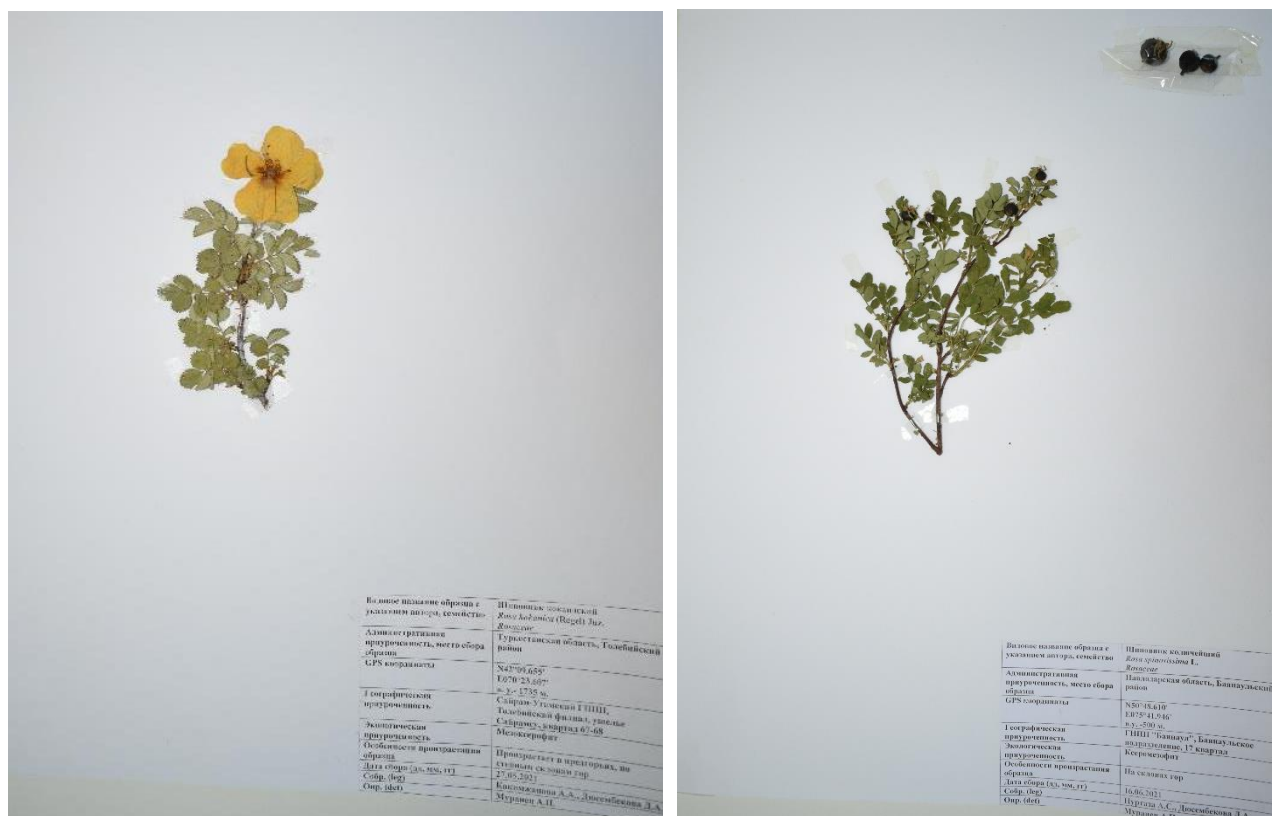
Шиповник кокандский (*R. kokanica* R.) был собран в предгорьях Туркестанской области (Толебийский район, ГНПП «Сайрам-Угам») из двух популяций. Растения были представлены кустарниками до 2 м высотой с ветвями красноватого цвета. На стебле имелись шипы прямые, иногда направлены вверх, при основании расширенные. Прилистники узкие. Листья с 5-8 листочками, обычно округлые дважды-пильчато-зубчатые. Цветки были на длинных цветоножках до 3 см в длину, лепестки венчика желтого цвета. Плоды шаровидные до 2 см, в зрелом состоянии черно-фиолетовые (рисунок 1). В двух собранных популяциях растения совпадали по основным морфологическим признакам.



а



б



в

г

а – Шиповник кокандский (*R. kokanica* R.) в ГНПП "Сайрам-Угам"; б – шиповник колючейший (*R. spinosissima* L.) в ГНПП «Баянаул»; в – гербарий шиповник кокандский (*R. kokanica* R.); г – гербарий шиповник колючейший (*R. spinosissima* L.)

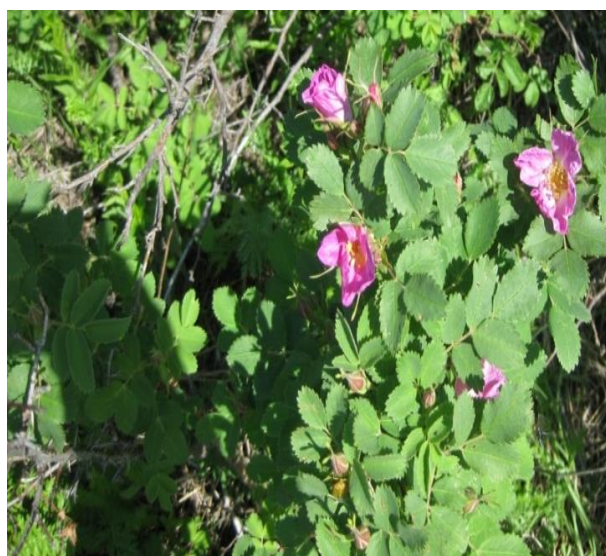
Рисунок 1. Виды растений рода шиповника *Rosa* L.

Шиповник колючейший (*R. spinosissima* L.) был собран в Баянаульском ГНПП на склонах гор. Растения были представлены кустарниками высотой до 1,3-1,5 м. Прямостоящие стебли с серыми колючими ветвями были покрыты многочисленными тонкими, прямыми, реже слегка изогнутыми шипами. Листья сложные, непарноперистые, 4-6 см длиной, из 5-10 листочков. Прилистники с маленькими ушками. Цветки одиночные, белые, желтовато-белые, в диаметре до 6 см. Плоды 10-14 мм, бурые, при созревании чернеющие, голые, сухие и твердые, с сохраняющимися и обычно отогнутыми вниз чашелистиками, шаровидные. Внутренние стенки плодов покрыты жесткой щетинкой. Семена – многочисленные орешки с очень плотной оболочкой. Плоды обладают большим количеством антиоксидантов, не уступающим содержанию их в суданской розе, входящей в состав известного чая «каркаде» (рисунок 1).

Шиповник коричный (майский) (*R. cinnamomea* L.) был собран на опушке лесных массивов в ГНПП «Баянаул». Растение было представлено многолетними кустарниками. Стебли были окрашены в коричнево-красный цвет. Шипы у растений этого вида редкие, твердые, изогнутые с расширенным основанием. Листья непарно-перистосложные. Листочки яйцевидно-удлиненные, к основанию суженные, зеленые, снизу опушенные. Растения имели рыхлые соцветия или одиночные цветки. Цветки с пятью лепестками и пятираздельной чашечкой, покрытые ланцетными прицветниками. Цинародии шаровидные, гладкие, мясистые, оранжевые, чашелистиками направлены вверх (рисунок 2).



а



б



в



г

а – Шиповник коричный (майский) (*R. cinnamomea* L.) в ГНПП «Баянаул»; б – шиповник иглистый (*R. acicularis* L.) в ГНПП «Баянаул»; в – гербарий шиповник коричный (майский) (*R. cinnamomea* L.); г – гербарий шиповник иглистый (*R. acicularis* L.)

Рисунок 2. Виды растений рода шиповника *Rosa* L.

Шиповник иглистый (*R. acicularis* L.) был собран в Баянаульском ГНПП на склонах гор. Растение было представлено кустарником высотой до 1,5-2 м, ветви многочисленные, с шипами прямыми, игольчатыми. Сложные непарноперистые широкоэллиптические листья, сверху голые, сине-зеленые, снизу – по жилкам редко опушенные. Цветки одиночные или имели рыхлые соцветия. Окраска лепестков венчика розовая или темно-розовая. Цинародии удлинённой формы, яйцевидной или грушевидной, резко суженные у основания. Отличительная особенность плода: верхняя часть плода покрыта железистыми щетинками (рисунок 2).

Шиповник рыхлый (*R. laxa* Retz) был собран в Акмолинской области, Бурабайском районе, в ГНПП «Бурабай» (рис. 3). Кустарник до 2 м высотой с сизовато-зелеными ветвями, с парными, нечастыми короткими и почти прямыми шипами, направленными вверх с сильно расширенным основанием, расположены попарно. Листья у растений непарно-перистосложные до 10 см в длину. Листочки 5-9 обратнояйцевидные, пильчатозубчатые. Цветки бледно-розовые, в щитках по 3-6. Чашелистики ланцетовидные. Плоды шаровидные с непадающими чашелистиками.

Шиповник собачий (*R. canina*) был собран в Беркаринском комплексном заказнике. Растения были представлены кустарниками высотой 1,5-2 м с толстыми дуговидно- изогнутыми ветвями. Стебли были покрыты редкими шипами серповидной формы с очень коротким основанием, обильные на цветonoсных побегах, и тогда обычно крючковидные. Листья непарноперистые, прилистники узкие, железисто-реснитчатые с ушками острой формы. Цветки без запаха, в рыхлых щитковидных соцветиях или одиночные. При созревании плодов чашелистики загибаются вниз к основанию плода и к концу вегетации обычно опадали. Лепестки короче чашелистиков. Цинародии гладкие и блестящие, оранжево-красного цвета, внутри имели много волосистых плодов-орешков. Как известно, виды шиповника *Caninae* способны как к перекрестному, так и к самоопылению, а также к факультативному апомиксису. Они способны гибридизоваться друг с другом и с видами из других секций [19].

Таблица 2

Отличительные особенности цветов, плодов собранных видов шиповника

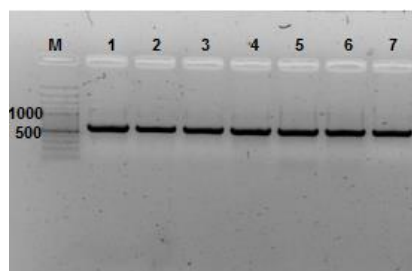
№ п/п	Название вида	Цветки	Плоды (цинародии)	
			форма гипантия	цвет гипантия, опушение
Секция <i>Pimpinellifoliae</i> DC.				
1	Шиповник кокандский (<i>R. kokanica</i> (REGEL) JUZ.) Популяция 1	цветки одиночные на длинных цветоножках до 4 см, лепестки венчика желтые	шаровидный до 20 мм длиной	черно- фиолетовый
2	Шиповник кокандский (<i>R. kokanica</i> (REGEL) JUZ.) Популяция 2			
3	Шиповник колючейший (<i>R. spinosissima</i> L.)	цветки одиночные на длинных цветоножках, венчик белого или бело- желтого цвета	шаровидные или сплюснуто- шаровидные от 6 до 14 мм длинной, цветожки под гипантием утолщенные	черноватый

Секция <i>Cinnamomeae</i> DC.				
4	Шиповник коричный (<i>R. cinnamomea</i> L.)	цветки одиночные или по 2-3, лепестки розовые	удлиненно-овальные, до 20 мм длиной	ярко-красный, гладкий
5	Шиповник иглистый (<i>R. acicularis</i> L.)	одиночные цветки красного или розового цвета	овальной формы с верхней перетяжкой, или обратно-грушевидные до 20 мм и более длиной	красный, гладкий
6	Шиповник рыхлый (<i>R. laxa</i> Retz.)	белые или бледно-розовые, в щитках по 3-6, иногда одиночные	широкоэллиптические или шаровидные, поникающие, до 20 мм длиной	красный с сизоватым налётом
Секция <i>Caninae</i> Crép.				
7	Шиповник собачий (<i>R. canina</i> L.)	белые до ярко-розового цвета лепестки венчика, в рыхлом щитковидном соцветии или одиночные	овальные, до 20 мм длиной	оранжево-красный, блестящий, лоснящийся, гладкий

Таким образом, по морфологическим признакам образцы шиповника были отнесены к 3 секциям *Pimpinellifoliae* DC., *Cinnamomeae* DC и *Caninae* Crép. По одному виду шиповника – шиповник кокандский (*R. kokanica* (REGEL) JUZ.) собрано 2 популяции.

После ботанического описания провели молекулярно-генетический анализ 7 образцов видов шиповника: шиповник кокандский (*R. kokanica* (REGEL) JUZ.), шиповник колючейший (*R. spinosissima* L.), шиповник коричный (*R. cinnamomea* L.), шиповник иглистый (*R. acicularis* L.), шиповник рыхлый (*R. laxa* Retz.), шиповник собачий (*R. canina* L.).

Согласно исследованиям [39], для подтверждения морфологической идентификации дикорастущих растений были использованы праймеры *rbcL* и *matK*. Так, с использованием праймера *rbcL*, универсальность и уровень дискриминации составили 100% для 51 вида растений из 22 семейств. В свою очередь для *matK* эти показатели составляли 35%. Таким образом, данный локус был предложен в качестве универсального при определении таксонов редких растений пустыни. Основываясь на данных этих ученых, мы провели амплификацию с праймером *rbcL* для молекулярно-генетической характеристики видов *Rosa* L. Размер амплифицированных фрагментов составил приблизительно 600 п.н. Продукты амплификации разделяли в 1,5% агарозном геле, и в результате для каждого образца были получены электрофоретические профили (рис. 3).



М – маркер молекулярного веса (Fermentas, 100-10000 п.н.); 1 – шиповник собачий; 2 – шиповник кокандский (популяция 1); 3 – шиповник кокандский (популяция 2); 4 – шиповник майский; 5 – шиповник колючейший; 6 – шиповник рыхлый; 7 – шиповник иглистый.

Рисунок 3. Электрофореграмма профилей ДНК видов растений *Rosa L.* с использованием *rbcl*

Нами были успешно секвенированы 7 образцов растения рода *Rosa L.*, в графическом формате с помощью программы *SeqMap* были получены их нуклеотидные последовательности.

Путем сравнения данных секвенирования с международной базой данных <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> по алгоритму *BLAST* семи образцов, успешно идентифицировали четыре на основе их нуклеотидных последовательностей, включая виды *R. canina L.*, *R. kokanica (REGEL) JUZ.*, *R. acicularis L.* Последовательности четырех образцов растений идентифицированы до вида с точностью 98% (*R. canina L.*, *R. kokanica (REGEL) JUZ.*, *R. acicularis L.*). Остальные 3 образца, из которых виды *R. majalis Herrm.* (*R. cinnamomea L.*), *R. spinosissima L.*, *R. laxa Retz* были идентифицированы как *R. kokanica* и *R. acicularis*. Результаты показывают, что в сравнении с другими видами рода *R. L.* нуклеотидная последовательность *R. spinosissima* имеет высокую гомологию с *R. acicularis* (98,7%). Последовательность *R. majalis Herrm.* (*R. cinnamomea L.*) на 98% гомологична с последовательностью *R. acicularis* и составляет 98%.

В работе Armenise L. и др. изучали четыре региона (*trnh-psba*, *rbcl*, *rpscl* и *matK*) для таксономии хвойных деревьев, произрастающих на территории Италии для изучения биоразнообразия. Авторы подтверждают, что последовательность *rbcl* всегда определяла растения до рода, но видовая идентификация составила 54,16% [40].

Трудности различения видов и создания устойчивой системы рода *Rosa* связаны со следующими факторами: слабые морфологические различия между видами и наличие внутривидового полиморфизма; отсутствие значительных генетических различий между многими видами, вероятно, связанных с их недавним появлением; способность многих видов к гибридизации [41].

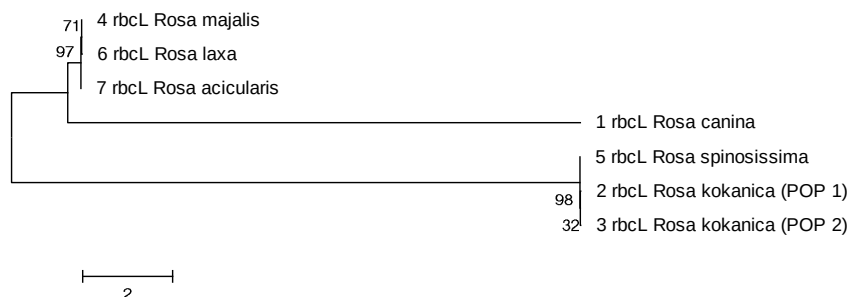


Рисунок 4. Филогенетическое древо видов *Rosa L.* с использованием хлоропластного маркера *rbcl*

Наше древо, построенное на основе последовательности хлоропластного гена *rbcL* по семи образцам шиповника, разделилось на три кластера. Генетическая поддержка разделения на кластеры достаточно высокая. Так, образцы секции *Pimpinellifoliae* (*R. kokanica* (REGEL) JUZ., *R. spinosissima* L.) выстроились в один кластер. Образцы секции *Cinnamomeae* (*R. majalis* Herrm. (*R. cinnamomea* L., *R. acicularis* и *R. laxa* Retz.) с секцией *Caninae* (*R. canina* L.) образовали один кластер с двумя подкластерами внутри и демонстрируют близкие филогенетические отношения. *R. canina* L. выделилась в отдельный подкластер. Помимо этого, филогенетическое древо имеет 4 узла. Представленный анализ отражает родственные связи видов *Rosa* L. (рисунок 4).

По проведенному нами исследованию локус *rbcL* может быть использован при видовой идентификации, но не является информативным для всех видов рода *Rosa* L. Поэтому в дальнейшем будет проведен молекулярно-генетический анализ с другими локусами для определения растений до вида.

Заключение

Нами было собраны и идентифицированы 6 видов рода *Rosa* L. имеющих народно-хозяйственное значение: *R. kokanica* (REGEL) REGEL ex JUZ., *R. spinosissima* L., *R. majalis* Herrm. (*R. cinnamomea* L.), *R. acicularis* L., *R. laxa* Retz, *R. canina* L., в числе которых вероятен отбор ценных форм по комплексу хозяйственно-ценных признаков.

Собранный материал может быть использован для сохранения *in vitro* хозяйственно-ценных видов *Rosa* L. Проведенный анализ локальных популяций шиповников дал возможность установить, что использование *rbcL* маркера является информативным для изучения внутривидового полиморфизма и позволило определить 4 образца шиповника из семи до вида. Однако использование *rbcL* маркера не всегда позволяет определить растения до вида. Полученные результаты могут быть применены для сравнительного изучения биоразнообразия растений и дальнейшего проведения исследований по систематике рода *Rosa* L.

Финансирование. Работа выполнена в рамках научно-технической программы: «Создание биобанка редких и исчезающих видов флоры и фауны Казахстана для сохранения биоразнообразия» на 2021-2022 годы при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Список литературы

1. Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. – Ленинград: Колос, 1971. – 752 с.
2. Павлов Н.П. Флора Казахстана. – Алма-Ата: Изд-во Наука, 1961. – 639 с.
3. Ивашенко А.А. Растительный мир Казахстана. – Алма-Ата: Изд-во Алматы кітап баспасы, 2004. – 176 с.
4. Кузнецова М.А. Резникова А.С. Сказания о лекарственных растениях. – Москва: Высшая школа, 1992. – 272 с.
5. Kaack K., Kühn Falk B. Evaluation of *Rose* hip species for processing of jam, jelly and soup // *Planteavl.* – 1991. – Vol. 95. – P. 353-358.
6. Дубцова Г.Н., Кусова И.У., Куницына И.К. Оценка биологически активных веществ сухого экстракта шиповника // *Пищевая промышленность.* – 2018. – №5. – С. 32-34.
7. Ozcan M. Nutrient composition of *Rose* (*Rosa canina* L.) seed and oils // *Journal of Medicinal Food.* – 2002. – Vol. 5(3). – P. 137-140.
8. Колесников С.А. Повышение продуктивности сортов шиповника на основе совершенствования защиты их от вредителей генеративных органов: диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук: защищена: 25.04.08. – Мичуринск: Наукоград, 2008. – 241 с.

9. Illes V., Szalai O., Then M., Daood H. and Perneczki S. Extraction of hiprose fruit by supercritical CO₂ and propane // *Journal Supercrit Fluids*. – 1997. – Vol. 10. – P. 209-218.
10. Hornero-Mendez D., Minquez-Mosquera M.I. Carotenoid pigments in *Rose mosqueta* hips, an alternative carotenoids source for foods // *Journal Agric. Food Chem.* – 2000. – Vol. 48. – P. 825-828.
11. Hvattum E. Determination of phenolic compounds in *Rose hip* (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection // *Rapid Commun Mass Spectrom.* – 2002. – Vol. 16. – P.655-662. DOI: 10.1002/rcm.622.
12. Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species // *Food Chemistry*. – 2007. – Vol. 104. – P. 1379-1384. DOI: doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.053.
13. Wenzig E.M., Widowitz U., Kunert O., Chrubasik S., Bucar F., Knauder E., Bauer R. Phytochemical composition and *in vitro* pharmacological activity of two rosehip (*Rosa canina* L.) preparations // *Phytomedicine*. – 2008. – Vol. 15. – P. 826-835. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.06.012.
14. Chrubasik C., Duke R.K., Chrubasik S. The evidence for clinical efficacy of rose hip and seed: a systematic review // *Phytother. Res.* – 2006. – Vol. 20. – P. 1-3. DOI: 10.1002/ptr.1729.
15. Winther K.A standardized powder made from rosehips (*Rosa canina* L.) improves function and reduces pain and the consumption of rescue medication in osteoarthritis // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2008. – Vol. 16. – P. 8-9. DOI: doi.org/10.1016/S1063-4584(08)60004-7.
16. Kharazmi A. Laboratory and preclinical studies on the anti-inflammatory and anti-oxidant properties of rosehip powder – identification and characterization of the active component GOPO // *Osteoarthritis and Cartilage*. – 2008. – Vol. 16. – P. 5-7. DOI: doi.org/10.1016/S1063-4584(08)60003-5.
17. Olsson M.E., Gustavsson K.E., Andersson S., Nilsson A., Duan, R.D. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2004. – Vol. 52. – P. 7264-7271. DOI: 10.1021/jf030479p.
18. Oyedemia S.O., Oyedemib B.O., Prietob J.M., Coopoosamya R.M., Stapleton P. *In vitro* assessment of antibiotic-resistance reversal of a methanol extract from *Rosa canina* L. // *South African Journal of Botany*. – 2016. – Vol. 105. – P. 337-342.
19. Шанцер И.А. Гибридизация, полиморфизм и филогенетические отношения видов рода *Rosa* L.: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук: защищена: 30.06.11. – Москва, 2011. – 296 с.
20. Alvarez I., Wendel J.F. Ribosomal *ITS* sequences and plant phylogenetic inference // *Mol. Phylogenet. Evol.* – 2003. – Vol. 29. – P.417-434.
21. Xiao-Qin Sun, Ying-Jie Zhu, Jian-Lin Guo, Bin Peng, Ming-Ming Bai, Yue-Yu Hang. DNA Barcoding the *Dioscorea* in China, a Vital Group in the Evolution of Monocotyledon: Use of *matK* Gene for Species Discrimination // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – №2. – e32057. DOI: 10.1371/journal.pone.0032057.
22. Sameera O.B., Ibrahim A.A., Mohammad A.B. Comparative evaluation of PCR success with universal primers of *maturase K* (*matK*) and *ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit* (*rbcL*) for barcoding of some arid plants // *Plant Omics*. – 2011. – Vol. 4(4). – P. 195-198.
23. Wicke S., Quandt D. Universal primers for the amplification of the plastid *trnK/matK* region in land plants // *Anales Jard. Bot. Madrid*. – 2009. – Vol. 66(2). – P. 285-288.
24. Shawkat M. Ahmed. Phylogenetic analysis of *Rosa damascena* L. from Taif using DNA barcoding approach // *Pak. J. Bot.* – 2019. – Vol. 51(1). – P. 157-164.
25. Байтенова М.С. Иллюстрированный определитель растений Казахстана: – Алма-Ата: Наука, 1969. – 525 с.
26. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue // *Focus*. – 1990. – Vol. 12. – P. 13-15.
27. Craig Costion. Plant DNA Barcodes Can Accurately Estimate Species Richness in Poorly Known Floras // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6. – P. e26841. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0026841.

28. Alex C.F., Shavlik J.W., Blattner, F.R. Neural network input representations that produce accurate consensus sequences from DNA fragment assemblies // *Bioinformatics*. – 1999. – Vol. 15(9). – P. 723-728.
29. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // *Mol. Biol. Evol.* – 2011. – Vol. 28. – P.2731-2739. DOI:10.1093/molbev/msr121.
30. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol. Biol. Evol.* – 1987. – Vol. 4. – P. 406-425. DOI: doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
31. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap // *Evolution*. – 1985. – Vol.39. – P. 783-791. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x.
32. Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – Vol. 101. – P. 11030-11035. DOI: 10.1073/pnas.0404206101.
33. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // *Proc Biol Sci*. – 2003. – Vol. 270. – P. 313-321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
34. Алтухов Ю.П. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях // *Вестник ВОГиС*. – 2004. – Т. 8 (2). – 40-59.
35. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ генофондов редких и исчезающих видов растений Пермского края: диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук: защищена: 20.11.09. – Уфа, 2009. – 356 с.
36. Андрианова Н.Г. Предварительная ресурсная оценка некоторых видов шиповника в Центральном Казахстане // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. – 2013. – Т.59. – № 3/2. – С. 458-460.
37. Ташметова Р.С., Кентбаев Е.Ж. Показатели плодов шиповника в горных условиях Алматинской области // *Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы устойчивого развития лесного хозяйства»*. Алматы, 2018. – С.314-318.
38. Канаев А.Т. Целесообразность изучения особенностей биохимического состава растений шиповника Жетысуского Алатау // *Материалы Международной научно-практической конференции «Устойчивое развитие территорий: теория и практика»*. – Сибай, 2020. – С. 147-149.
39. Lina Maloukh L., Kumarappan A., Jarrar M. et.all. Discriminatory power of *rbcL* barcode locus for authentication of some of United Arab Emirates (UAE) native plants // *3 Biotech*. – 2017. – Vol. 7. – P. 144. DOI: 10.1007/s13205-017-0746-1.
40. Armenise L., Simeone M. C., Piredda R., Schirone B. Validation of DNA barcoding as an efficient tool for taxon identification and detection of species diversity in Italian conifers // *Eur. J. Forest Res.* – 2012. – Vol.131. – P. 1337-1353. DOI: 10.1007/s10342-012-0602-0.
41. Федорова А.В. Систематика и география видов рода *Rosa* L.: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук: защищена: 29.05.14. – Москва, 2014. – 127 с.

**А.П. Муранец¹, А.К. Есимсеитова¹, Д.А. Дюсембекова¹, А.С. Нұртаза¹, Қ.Р. Қалыбаев²,
К.З. Кожанов³, А.А. Какимжанова¹**

¹Ұлттық биотехнология орталығы, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

²Сайрам-Өгем мемлекеттік ұлттық табиғи паркі, Шымкент, Қазақстан

³Баянауыл мемлекеттік ұлттық табиғи паркі, Баянауыл, Қазақстан

Қазақстандағы *Rosa* L. тұқымдасының жабайы өсімдіктерінің биоәртүрлілігін зерттеу және олардың молекулярлық-генетикалық идентификациясы

Аңдатпа. Биологиялық әртүрліліктің төмендеуі қазіргі уақыттағы негізгі мәселелердің арасында өте маңызды орын алады. Жабайы өсімдіктер генетикалық ресурстардың көзі ғана

емес, сонымен қатар экономика үшін де маңызды. Қазақстандағы ең маңызды жеміс өсімдіктерінің ішінде *Rosa L.* тұқымдасының жабайы түрлері бар. Итмұрын түрі (*Rosa L.*) роза гүлділер тұқымдасының көпжылдық өсімдіктеріне жатады. Қазақстанда жабайы итмұрынның 20-дан астам түрі өседі. Қазіргі өсімдік шаруашылығында итмұрын дәрілік, тағамдық және сәндік өсімдік ретінде қолданылады. Түр құрамын, оның морфологиялық және генетикалық сипаттамаларын анықтау өсімдік ресурстарын ұтымды пайдаланудың негізі болып табылады. Мақаланың мақсаты өсімдіктердің морфологиялық сипаттамалары мен олардың молекулалық генотиптеріне негізделген *Rosa L.* тұқымдасының өсімдіктерінің биоәртүрлілігін зерттеу болды. Зерттеуде біз өсімдіктердің 6 түрін анықтадық: *Rosa kokanica* (Regel) Regel ex Juz., *Rosa spinosissima* L., *Rosa majalis* Herrm. (*Rosa cinnamomea* L.), *Rosa acicularis* L., *Rosa laxa* Retz, *Rosa canina* L. морфологиялық сипаттамасы бойынша және *rbcL* хлоропласт маркерінің көмегімен анықталды. Алынған мәліметтерді итмұрын өсімдіктерінің биоәртүрлілігін салыстырмалы зерттеу үшін пайдалануға болады.

Түйін сөздер: *Rosa L.*, систематика, биоәртүрлілік, сәйкестендіру, *rbcL*, филогения.

A.P. Muranets¹, A.K. Yessimseitova¹, D.A. Dyussebekova¹, A.S. Nurtaza¹, K.R. Kalybayev²,
K.Z. Kozhanov³, A.A. Kakimzhanova¹

¹National Center for Biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

²Sairam-Ugam State National Natural Park, Shymkent, Kazakhstan

³Bayanaul State National Natural Park, Bayanaul, Kazakhstan

Study of the biodiversity of wild plants of the genus *Rosa L.* in Kazakhstan and their molecular-genetic identification

Abstract. The reduction of biological diversity is one of the most important problems of the present time. Wild plants are not only a source of genetic resources but are also important for the economy. Species of the genus *Rosa L.* are among the most significant wild-growing fruit plants in Kazakhstan. The genus rosehip (*Rosa L.*) belongs to the perennial plants of the *Rosaceae* family. More than 20 wild rosehip species grow in Kazakhstan. In modern plant growing, wild rose is used as a medicinal, food, and ornamental plant. Determination of the species composition, and its morphological and genetic characteristics is the basis for the rational use of plant resources. The aim of our research was to study the biodiversity of plants of the genus *Rosa L.* based on the morphological characteristics of plants and their molecular genotyping. In this study, we identified 6 plant species of the following genus: *Rosa kokanica* (REGEL) REGEL ex JUZ., *Rosa spinosissima* L., *Rosa majalis* Herrm. (*Rosa cinnamomea* L.), *Rosa acicularis* L., *Rosa laxa* Retz, *Rosa canina* L. by morphological characteristics and performed identification using the *rbcL* chloroplast marker. The data obtained can be used for a comparative study of the biodiversity of rosehip plants.

Keywords: *Rosa L.*, taxonomy, biodiversity, identification, *rbcL*, phylogeny.

References

1. ZHukovskij P.M. Kul'turnye rasteniya i ih sorodichi. [Cultural plants and their congeners]. (Kolos, 1971, 752 p.). [in Russian]
2. Pavlov N.P. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. (Alma-Ata, Nauka, 1961. 639 p.). [in Russian]
3. Ivashchenko A.A. Rastitel'nyj mir Kazahstana [The flora of Kazakhstan]. (Alma-Ata, Almaty kitap baspasy, 2004, 176 p.). [in Russian]
4. Kuznecova M.A., Reznikova A.S. Skazaniya o lekarstvennyh rasteniyah [Legends about medicinal plants]. (Moskva, Vysshaya shkola, 1992, 272 p.). [in Russian]

5. Kaack K. Kühn Falk B. Evaluation of *Rose* hip species for processing of jam, jelly and soup. *Planteavl*, 95, 353-358 (1991).
6. Dubcova G.N., Kusova I.U., Kunicyna I.K. Ocenka biologicheskii aktivnykh veshchestv suhogo ekstrakta shipovnika [Evaluation of biologically active substances of dry rosehip extract], *Pishchevaya promyshlennost* [Food industry], 5, 32-34 (2018). [in Russian]
7. Ozcan M. Nutrient composition of *Rose* (*Rosa canina* L.) seed and oils, *Journal of Medicinal Food*, 5(3), 137-140 (2002).
8. Kolesnikov S.A. Povyshenie produktivnosti sortov shipovnika na osnove sovershenstvovaniya zashchity ih ot vreditel'ey generativnykh organov. Dissertatsiya na soiskanie uchenoi stepeni kandidata sel'skohozyajstvennykh nauk [Increasing the productivity of rosehip varieties based on improving their protection from pests of generative organs. Dissertation for the degree of candidate of agricultural sciences]. Protected: 25/04/08 Michurinsk: Naukograd, 2008, 241 p. [in Russian]
9. Illes, V., Szalai O., Then M., Daood H. and Perneczki S. Extraction of hiprose fruit by supercritical CO₂ and propane, *Journal Supercrit Fluids*, 10, 209-218 (1997).
10. Hornero-Mendez D., Minquez-Mosquera M.I. Carotenoid pigments in *Rose* mosqueta hips, an alternative carotenoids source for foods, *Journal Agric. Food Chem*, 48, 825-828 (2000).
11. Hvattum E. Determination of phenolic compounds in *Rose* hip (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 16, 655-662 (2002).
12. Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species, *Food Chemistry*, 104, 1379-1384 (2007).
13. Wenzig E.M., Widowitz U., Kunert O., Chrubasik S., Bucar F., Knauder E., Bauer R. Phytochemical composition and *in vitro* pharmacological activity of two rosehip (*Rosa canina* L.) preparations, *Phytomedicine*, 15, 826-835 (2008).
14. Chrubasik C., Duke R.K., Chrubasik S. The evidence for clinical efficacy of rosehip and seed: a systematic review, *Phytother. Res*, 20, 1-3 (2006).
15. Winther K.A standardized powder made from rosehips (*Rosa canina* L.) improves function and reduces pain and the consumption of rescue medication in osteoarthritis, *Osteoarthritis and Cartilage*, 16, 8-9 (2008).
16. Kharazmi A. Laboratory and preclinical studies on the anti-inflammatory and anti-oxidant properties of rosehip powder – identification and characterization of the active component GOPO, *Osteoarthritis and Cartilage*, 16, 5-7 (2008).
17. Olsson M.E., Gustavsson K.E., Andersson S., Nilsson A., Duan, R. D. Inhibition of cancer cell proliferation *in vitro* by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7264-7271 (2004).
18. Oyedemia S.O., Oyedemib B.O., Prietob J.M., Coopoosamya R.M., Stapleton P. *In vitro* assessment of antibiotic-resistance reversal of a methanol extract from *Rosa canina* L., *South African Journal of Botany*, 105, 337-342 (2016).
19. SHancer I.A. Gibridizatsiya, polimorfizm i filogeneticheskie otnosheniya vidov roda *Rosa* L. Dissertatsiya na soiskanie uchenoi stepeni doktora biologicheskikh nauk [Hybridization, polymorphism and phylogenetic relations of species of the genus *Rosa* L.: Dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences: Protected: 30/06/11 Moskva, 2011, 296 p.
20. Alvarez I., Wendel J.F. Ribosomal *ITS* sequences and plant phylogenetic inference, *Mol. Phylogenet. Evol*, 29, 417-434 (2003).
21. Xiao-Qin Sun, Ying-Jie Zhu, Jian-Lin Guo, Bin Peng, Ming-Ming Bai, Yue-Yu Hang. DNA Barcoding theDioscoreain China, a Vital Group inthe Evolution of Monocotyledon: Use of *matK* Gene for Species Discrimination, *PLoS ONE*, 7(2), e32057 (2012).
22. Sameera O.B., Ibrahim A.A., Mohammad A.B. Comparative evaluation of PCR success with universal primers of *maturase K* (*matK*) and *ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit*

(*rbcL*) for barcoding of some arid plants, *Plant Omics*, 4(4), 195-198 (2011).

23. Wicke S., Quandt D. Universal primers for the amplification of the plastid *trnK/matK* region in land plants, *Anales Jard. Bot. Madrid*, 66(2), 285-288 (2009).

24. Shawkat M. Ahmed. Phylogenetic analysis of *Rosa damascena* L. from Taif using DNA barcoding approach, *Pak. J. Bot.*, 51(1), 157-164 (2019).

25. Bajtenova M.S. Illyustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana [Illustrated Guide to Plants of Kazakhstan]. (Nauka, Alma-Ata, 1969, 525 p.). [in Russian]

26. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue, *Focus*, 12, 13-15 (1990).

27. Craig Costion. Plant DNA Barcodes Can Accurately Estimate Species Richness in Poorly Known Floras, *PLoS ONE*, 6, e26841 (2011).

28. Allex C.F., Shavlik J.W., Blattner F.R. Neural network input representations that produce accurate consensus sequences from DNA fragment assemblies, *Bioinformatics*, 15(9), 723-728 (1999).

29. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods, *Mol. Biol. Evol.*, 28, 2731-2739 (2011).

30. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406-425 (1987).

31. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap, *Evolution*, 39, 783-791 (1985).

32. Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 11030-11035 (2004).

33. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes, *Proc Biol Sci.*, 270, 313-321 (2003).

34. Altukhov Yu.P. Dinamika populyaczionny'kh genofondov pri antropogenny'kh vozdeystviyakh [Dynamics of population gene pools under anthropogenic influences], *Vestnik VOGiS* [Bulletin of VOGiS], 8(2), 40-59 (2004). [in Russian]

35. Boronnikova S.V. Molekulyarno-geneticheskij analiz genofondov redkih i ischezayushchih vidov rastenij Permskogo kraja. Dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata sel'skohozyajstvennyh nauk [Molecular genetic analysis of gene pools of rare and endangered plant species of the Perm Territory. Dissertation for the degree of candidate of agricultural sciences]. Protected: 20/11/09 Ufa, 2009, 356 p. [in Russian]

36. Andrianova N.G. Predvaritel'naya resursnaya ocenka nekotoryh vidov shipovnika v Central'nom Kazahstane [Preliminary resource assessment of some species of rose hips in Central Kazakhstan], *Vestnik KazNU. Ceriya biologicheskaya* [Bulletin of KazNU. Biological series], 59 (3/2), 458-460 (2013). [in Russian]

37. Tashmetova R.S., Kentbaev E.ZH. Pokazateli plodov shipovnika v gornyh usloviyah Almatinskoj oblasti. Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Aktual'nye problemy ustojchivogo razvitiya lesnogo hozyajstva», Almaty [Indicators of rose hips in the mountainous conditions of the Almaty region. Materials of the International scientific-practical conference "Actual problems of sustainable development of forestry", Almaty], 314-318 (2018). [in Russian]

38. Kanaev A.T. Celesoobraznost' izucheniya osobennostej biohimicheskogo sostava rastenij shipovnika Zhetysuskogo Alatau. Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Ustojchivoe razvitie territorij: teoriya i praktika», Sibaj [Feasibility of studying the characteristics of the biochemical composition of rosehip plants in the Zhetysu Alatau. Materials of the International Scientific and Practical Conference "Sustainable Development of Territories: Theory and Practice", Sibaj], 147-149 (2020). [in Russian]

39. Lina Maloukh L., Kumarappan A., Jarrar M. et.all. Discriminatory power of *rbcL* barcode locus for authentication of some of United Arab Emirates (UAE) native plants, 3 Biotech, 7, 144 (2017).

40. Armenise L., Simeone M. C., Piredda R., Schirone B. Validation of DNA barcoding as an efficient tool for taxon identification and detection of species diversity in Italian conifers, Eur J Forest Res, 131, 1337-1353 (2012).

41. Fedorova A.V. Sistematika i geografiya vidov roda *Rosa* L. Dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk [Systematics and geography of species of the genus *Rosa* L. Dissertation for the degree of candidate of biological sciences] Protected: 29/05/14 Moskva, 2014, 127 p. [in Russian]

Сведения об авторах:

Муранец А.П. – к.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Есимсеитова А.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Дюсембекова Д.А. – младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Нуртаза А.С. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Калыбаев К.Р. – начальник отдела науки, информации и мониторинга Сайрам-Угамского государственного национального природного парка, улица Желтоксан, 18, Шымкент, Казахстан.

Кожанов К.З. – руководитель отдела науки и мониторинга Баянаульского государственного национального природного парка, улица Жасыбай, 122, Баянаульский с. о., Казахстан.

Какимжанова А.А. – д.б.н., доцент, зав. лабораторией биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Muranets A.P. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Senior Researcher of the Laboratory of Biotechnology and Plant Breeding, National Center for Biotechnology, 13/5 Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Yessimseitova A.K. – Researcher of the laboratory Of Biotechnology and Plant Breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Dyussembekova D.A. – Junior Researcher of the Laboratory of Biotechnology and Plant Breeding, National Center for Biotechnology, 13/5 Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan

Nurtaza A.S. – Researcher of the Laboratory of Biotechnology and Plant Breeding, National Center for Biotechnology, 13/5 Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kalybayev K.R. – Head of the Science, Information, and Monitoring Department of the Sairam-Ugam State National Natural Park, 18 Zheltoksan str., Shymkent, Kazakhstan.

Kozhanov K.Z. – Head of the Science and Monitoring Department of the Bayanaul State National Natural Park, 122 Zhasybay str., Bayanaul, Kazakhstan.

Б.Р. Қали, А.О. Рахимжанова, Ш.А. Манабаева*

Ұлттық биотехнология орталығы, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

*Байланыс үшін автор: manabaeva@biocenter.kz

Отандық картоп сұрыптарының тікелей емес регенерациясы

Аңдатпа. Мақалада зерттеу нысаны ретінде отандық картоп сұрыптарының үш түрі алынды: Ақсор, Тоқтар және Астаналық. Сұрыптар *in vitro* жағдайында каллусогенез үрдісі және тікелей емес регенерацияға қабілеті бойынша бағаланды. Осы жүргізілген тәжірибелер нәтижесінде фитогормондардың әсері зерттелді. Тәжірибеміздің мақсаты картоп сұрыптарының каллусогенез және тікелей емес регенерация үрдісінің әртүрлі өсу реттегіштеріне тәуелділігін зерттеу болды. Зерттеу нәтижесінде сабақ экспланттарынан каллус түзілу қарқындылығы құрамында 2,0 мг/л БАП және 3,0 мг/л НСК бар МСК II қоректік ортасы Ақсор (93%) және Тоқтар (87%) сұрыптары үшін тиімді екендігі анықталды, ал құрамында 4,0 мг/л БАП және 1,0 мг/л НСК бар МСК V нұсқасы Астаналық (82,5%) сұрыпы үшін оңтайлы болғандығы анықталды. Регенерацияға арналған құрамында БАП 0,5 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚЗ 2,0 мг/л бар МСР III қоректік ортасында регенерация жиілігі Ақсор және Тоқтар сұрыптарында 53,3% және 77,8% құрды. Астаналық сұрыпы құрамында ИСК 0,1 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚЗ 10,0 мг/л бар МСР IV қоректік ортасында 60,9%-ке дейін регенерацияға қабілеттілігін көрсетті. Зерттеу нәтижесінде отандық картоп сұрыптарының тікелей емес регенерацияға жоғары қабілеттілігі анықталды.

Түйін сөздер: картоп, *in vitro*, эксплант, каллус, тікелей емес регенерация.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-61-69

Кіріспе

Картоп (*Solanum tuberosum* L.) – алқа тұқымдасына жататын, әлем тұрғындарын тамақтандыруға қабілетті, адамзат тұтынуы үшін әлемдік өндірісте бидай мен күріш және жүгеріден асып түсетін дақыл. Картоптың Отаны – Оңтүстік және Орталық Американың таулы аймақтары. Радиоактивті көміртекті қолдануда жүргізілген зерттеулер көрсеткендей, картоп кемінде 8000 жыл бұрын Оңтүстік - Шығыс Перу мен Боливияның солтүстік - батысындағы таулы жерлерде өсірілген [1]. Қазақстанға Еуропадан әкелінген және қазіргі кезде республиканың барлық аумақтарында өсіріледі. Қазақстанда 2020 жылғы статистикалық деректерде орташа есеппен алғанда халықтың жан басына шаққандағы картопты тұтынуы – 4,2 кг құрған және ең көп тұтынатын аумақ Қарағанды облысы, ал ең аз тұтынатын аумақ Қызылорда облысы екендігі анықталған.[<https://www.stat.gov.kz>]

Картоптың тұқымдық өндірісінде биотехнологияның қазіргі әдістерін қолдану маңызды. Өсімдік ұштары (апекс) және клонды микрокөбейтуді қолданып сауықтырылған өсімдік материалын алу биотехнологиядағы тиімді әдістердің бірі. Вируссыз картоп көшеттерін алу үшін дүниежүзі елдері жасушалық дәстүрді дамытуда [2].

In vitro жағдайында өсірілетін жасушаларды пайдалану биотехнологияның дамуымен тығыз байланысты. *In vitro* жағдайында өсіру өсімдік жасушаларын табиғи биологиялық модель ретінде қолданып, өсімдіктер физиологиясы, биохимиясы және генетикасының бірқатар мәселелерін зерттеуге мүмкіндік береді. Қоректік ортаны таңдау өсімдік түріне және тәжірибенің мақсатына, ал фитогормондар әсер ету механизміне байланысты іріктеп алынады. Өсімдік жасушалары, ұлпалары мен мүшелері өсуіне қоректік орта ғана емес, сонымен қатар сыртқы факторлар да әсер етеді. Өсімдік жасушаларын өсіру үшін қажетті жарықтың сапасы мен қарқындылығын

және қолайлы температураны анықтау қажет. *In vitro* жағдайында өсірген өсімдік жасушалары табиғи өсімдікке тән биосинтездік қасиетін сақтайды, сол себепті экономикалық маңызы бар заттарды өндіру үшін пайдалануға болады [3].

In vitro жағдайында өскін регенерациясы әр түрлі жасушалық және гендік инженерия тәжірибелерін сәтті жүзеге асырудың міндетті шарты болып табылады. Осыған байланысты өсімдік жасушаларының культурасында морфогенездің индукциясын зерттеуге әрқашан үлкен көңіл бөлінді. *In vitro*-да картоп ұлпасының регенерация үрдістері қоректік ортаның құрамына, өсімдіктің физиологиялық жағдайы, сұрыптық ерекшеліктері мен эксплант типіне байланысты [4]. Картоптан *in vitro* жағдайында регенерант-өсімдік алудың маңызы зор. Тәжірибелер отандық картоп сұрыптарының морфогенетикалық потенциалын зерттеу және *in vitro* жағдайында картоптың каллус жасушаларынан өскіндер алу үшін жасалды. Зерттеу нәтижесінің оңтайлы болуы жаңа технологияны, атап айтқанда, генді редакциялауға бағытталған жұмыстардың табысты болуына көмектеседі.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу нысаны ретінде отандық картоптың үш сұрыпы алынды: Ақсор, Тоқтар және Астаналық. Ақсор сұрыпы – Қазақ картоп және көкөніс шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтында өсірілген. Сатылы, түрішілік будандастыру әдісімен алынған. 1988 жылы ҚР селекциялық жетістіктерінің мемлекеттік тізіміне енгізілген. Тоқтар сұрыпы – өнімі мол, ыстыққа және құрғақшылыққа, вирус пен саңырауқұлақ ауруларына төзімділігі жоғары. Астаналық сұрыпы – Қарасай сұрыпының клоны, құрғақ фузариоз шірігі мен вирустық ауруларға төзімді.

Біздің зерттеуімізде картоп сұрыптарының сабақ экспланттары қолданылды. Картоптың сабақ экспланттары картоп микроклондарынан 5-7 мм мөлшерінде дайындалды. Каллусогенез және тікелей емес регенерация үшін сабақ экспланттары құрамында әртүрлі мөлшерде ауксиндер: индолил-3-сірке қышқылы (ИСК), α -нафтил-1-сірке қышқылы (НСҚ), цитокининдер: транс-зеатин, бензиламинопурин (БАП), және гибберел қышқылы (ГҚз) мен сахарозасы бар дәруменді Мурасиге – Скут (МС) қоректік ортасы қолданылды. Көмірсу көзі ретінде құрамында 20 г/л және 30 г/л мөлшерде болатын сахароза мен құрамында глицин 2 мг/л, мио-инозитол 100 мг/л, никотин қышқылы 0,5 мг/л, пиридоксин гидрохлориді 0,5 мг/л, тиамин гидрохлориді 0,1 мг/л бар МС дәруменді ерітіндісі (M3900, Sigma) қолданылды.

Қоректік орта 121°C температурада залалсыздандырылды. Қоректік ортаның рН көрсеткіші 1М NaOH көмегімен 5,6–5,8 мөлшеріне дейін жеткізілді. Фитогормондар мен дәрумендер диаметрі 0,22 мкм болатын сүзгіш көмегімен зарарсыздандырылып, суыған қоректік ортаға қосылды. Картоптың сабақ экспланттары құрамында фитогелі бар МС қоректік ортасында Петри табақшасында өсірілді. Экспланттар 26-28°C температурада және 16 сағаттық фотопериод жарықта өсірілді. Каллусогенез үрдісін қоздыру үшін құрамында фитогормондар БАП және НСҚ (1,0 мг/л, 2,0 мг/л, 2,5 мг/л, 3,0 мг/л және 4,0 мг/л) бар МС қоректік ортасының 5 нұсқасы және тікелей емес регенерация үшін құрамында БАП (0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 1,0 мг/л), ГҚз (1,0 мг/л, 2,0 мг/л, 3,0 мг/л, 10 мг/л) және транс-зеатин 1,0 мг/л бар МС қоректік ортасының 4 нұсқасы дайындалды (кесте 1).

1 кесте

Картоптың каллусогенез және тікелей емес регенерацияға арналған қоректік орта нұсқалары

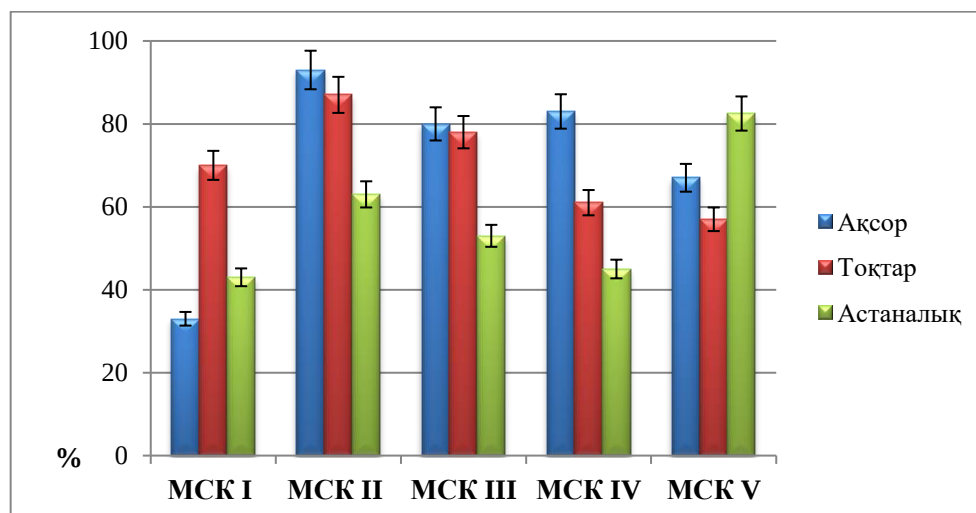
№	Фитогормондар атауы, мг/л	Каллусогенез					Регенерация			
		МСК I	МСК II	МСК III	МСК IV	МСК V	МСР I	МСР II	МСР III	МСР IV
1	БАП	1,0	2,0	2,5	3,0	4,0	1,0	0,1	0,5	–
2	НСҚ	4,0	3,0	2,5	2,0	1,0	–	–	–	–
3	Транс-зеатин	–	–	–	–	–	1,0	1,0	1,0	1,0
4	ГҚз	–	–	–	–	–	1,0	3,0	2,0	10,0
5	ИСҚ	–	–	–	–	–	–	–	–	0,1

Каллусогенез үрдісі үшін сабақ экспланттары МС қоректік ортасының 5 нұсқасында өсірілді және 4 апталық экспланттар жаңа қоректік ортаға көшірілді. Картоп экспланттары екі пассаж жаңартылып қоректік ортаға көшірілген соң, пайда болған каллус жасушасы тікелей емес регенерацияға арналған қоректік ортаға салынды. МСР қоректік ортасына көшірілген каллус ұлпалары 4 аптада көшіріліп отырды және пайда болған жас өскіндер тамырланған өсімдік-регенеранттар алу үшін пробиркаларға көшірілді.

Зерттеу нәтижелері және талдау

Өсірілетін каллус ұлпасының морфологиялық-генетикалық қабілеті эксплант алынған ортаға, оның физиологиялық жасына, көлеміне, анатомиялық және морфологиялық ерекшеліктеріне байланысты екені белгілі. Қоректік ортаны таңдау морфогендік құрылымдардың шығу жиілігін және регенерацияны арттырудың маңызды элементтерінің бірі. Дәрумендер мен фитогормондар өсімдіктердегі қоректік ортаның қажетті құрамдас бөлігі болып табылады.

Каллусогенез. Зерттеліп отырған картоп сұрыптарының сабақ экспланттарынан каллус түзу 4-ші аптадан бастап бақыланды. Осы қоректік ортаға екі рет көшіру арқылы каллус көлемі арттырылды. Көбейтілген каллус ұлпалары регенерацияға арналған қоректік ортаға көшірілді. Каллусогенез үрдісі барысында картоп сұрыптарының айырмашылықтары әсері төмендегі 1-суретте көрсетілген.

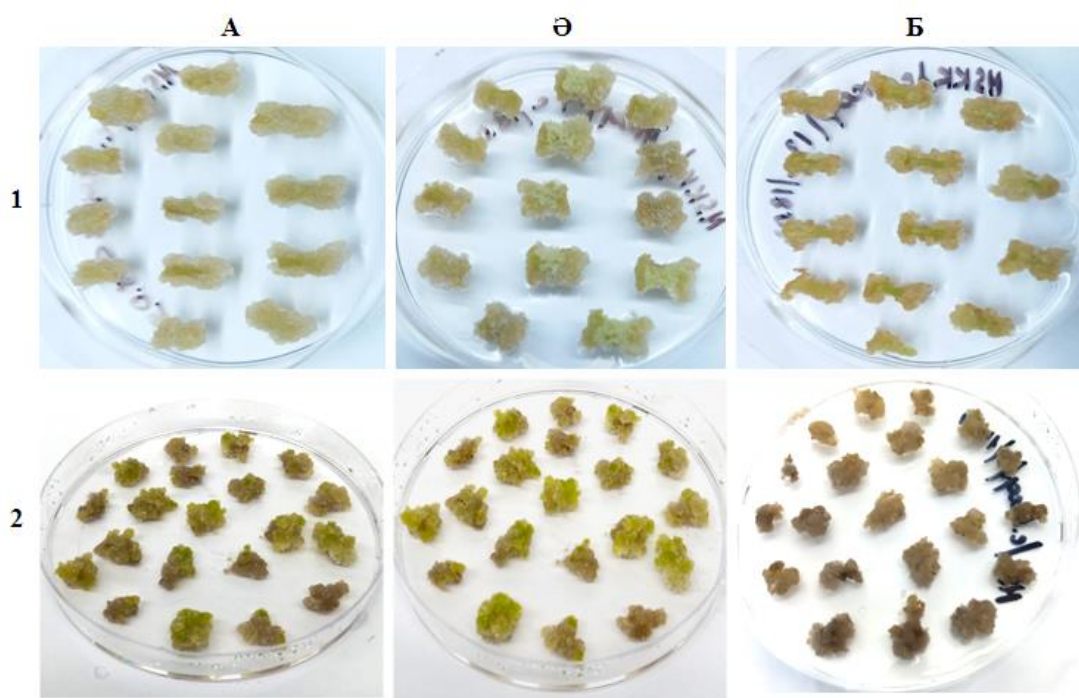


Сурет 1. Отандық картоп сұрыптарының каллус түзу қарқындылығы (%)

Зерттеулер нәтижесінде, картоптың сабақ экспланттары қоректік ортаның әр түрлі нұсқаларында фитогормондардың әсері бойынша, каллустық массаның ұлғаюы мен бөлінуіне байланысты бағаланды. Біздің зерттеуімізде каллус түзілу қарқындылығы бойынша құрамында 2,0 мг/л БАП және 3,0 мг/л НСК бар МСК II қоректік ортасында Ақсор сұрыпы 93% және Тоқтар сұрыпы 87% көрсеткішке ие болды. Құрамында 4,0 мг/л БАП және 1,0 мг/л НСК бар МСК V нұсқасында Астаналық сұрыпы 82,5% болса, Тоқтар сұрыпы ең төмен нәтиже көрсетті (57%). Ақсор және Астаналық сұрыптары үшін төмен көрсеткіш құрамында БАП 1,0 мг/л және НСК 4,0 мг/л бар қоректік ортаның МСК I нұсқасында сәйкесінше 33% және 43% болды.

Әдебиет көздеріне сүйенсек, каллустың жоғары деңгейі 2,5 мг/л НСК және 2,0 мг/л БАП қоректік ортасында 95%, регенерацияның ең жоғары көрсеткіші 80% тең болған [5]. Gudiene сұрыпы үшін 1,5 мг/л БАП және 3,0 мг/л НСК бар орта, ал Belete сұрыпы үшін 1,0 мг/л БАП және 2,0 мг/л НСК бар жасанды қоректік орта оңтайлы әсер еткен [6].

Жүргізілген зерттеу жұмысы барысында каллустың түсі, құрылымы мен формасы бастапқы эксплант пен фитогормондар концентрациясына байланысты болатыны анықталды. Каллустық ұлпалар өсу қарқындылығымен, түсімен, жарықта жасыл түске ие болу қабілетімен және морфогендік белсенділігімен ерекшеленді. Мысалы, Ақсор және Тоқтар сұрыптарының сабақ экспланттарынан алынған каллус ұлпалары борпылдақ, сулы консистенцияда және ақшыл сары, жасыл және қоңыр түстермен ерекшеленді. Астаналық сұрыпынан алынған каллус ұлпалары әлсіз борпылдақ күйде сарғыш және қоңыр түсті болды. Екінші суретте қоректік ортаның бес нұсқасында зерттеліп отырған картоп сұрыптарының каллус түзу үрдісі көрсетілген (2 сурет).



Сурет 2. Картоп сұрыптарының сабақ экспланттарынан каллус түзілу үрдісі:
Бір айлық картоптың сабақ экспланттары (1) және картоптың каллус ұлпасының түрлері (2)
 А – Ақсор сұрыпы, Б – Тоқтар сұрыпы, В – Астаналық сұрыпы

Тікелей емес регенерация. Картоп өсімдіктерін каллустық ұлпадан қалпына келтіруге болатыны белгілі. Мақалада картоптың каллус ұлпаларынан регенерант-өсімдік алу картоп экспланттарының өсу жағдайлары мен өсу реттегіштерінің каллусогенезге оңтайлы комбинациясын анықтаған соң жүзеге асырылды. *In vitro* жағдайында каллус түріне байланысты,

борпылдақ морфогенді емес ұлпадан регенерант-өсімдік алу мүмкін емес. Дегенмен борпылдақ және сулы консистенциядағы каллустарды регенерацияға арналған қоректік ортаға көшіре отырып, тығыз морфогенді каллус алынды. Тығыз түйіршікті морфогенді каллус ұлпалары өсімдік өскіншелерін индукциялайды. регенеранттар бастамасы болып табылады. *In vitro* жағдайында каллус түзуге барлық өсімдік өкілдері қабілетті. Жоғарыда каллусогенез үрдісі арқылы алынған картоптың каллус ұлпалары регенерацияға арналған МСР қоректік ортасының төрт түрлі нұсқасына көшірілді. Зерттеу нәтижелері 2-кестеде және 3-суретте көрсетілген.

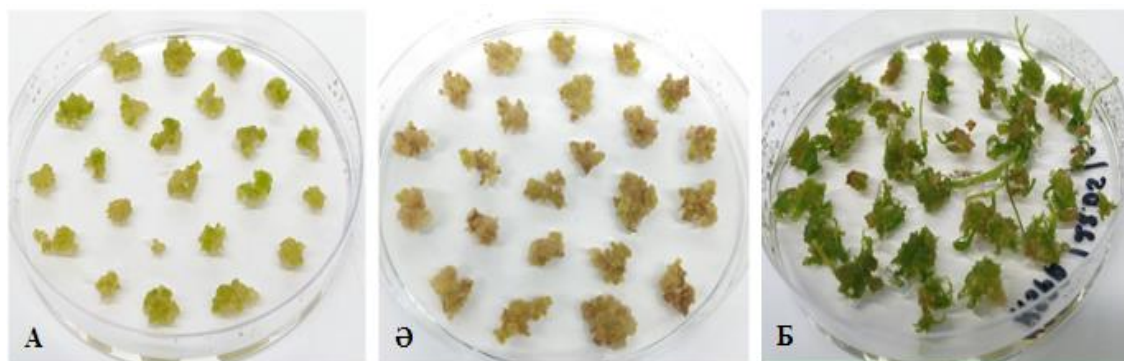
2 кесте

Картоп сұрыптарының регенерация жиілігі

Қоректік орта нұсқалары	Ақсор		Тоқтар		Астаналық	
	Каллус саны, дана	Реген. жиілігі, %	Каллус саны, дана	Реген. жиілігі, %	Каллус саны, дана	Реген. жиілігі, %
МСР I	78	37,1 ± 2,07	48	62,5 ± 2,81	47	34,0 ± 1,82
МСР II	37	29,9 ± 3,69	47	38,3 ± 2,01	35	22,9 ± 3,22
МСР III	45	53,3 ± 3,12	72	77,8 ± 2,37	51	43,1 ± 1,84
МСР IV	43	48,8 ± 2,18	20	45,0 ± 2,19	23	60,9 ± 1,77

Регенерацияға арналған құрамында БАП 0,5 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚз 2,0 мг/л бар МСР III қоректік ортасында регенерация жиілігі Ақсор және Тоқтар сұрыптарында 53,3% және 77,8% құрды. Астаналық сұрыпы құрамында ИСК 0,1 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚз 10,0 мг/л бар МСР IV қоректік ортасында 60,9% көрсеткішке ие болды. Ең төменгі нәтижені регенерацияға арналған құрамында БАП 0,1 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚз 3,0 мг/л бар қоректік ортаның МСР II нұсқасы Ақсор (29,9%), Тоқтар (38,3%), Астаналық (22,9%) көрсетті.

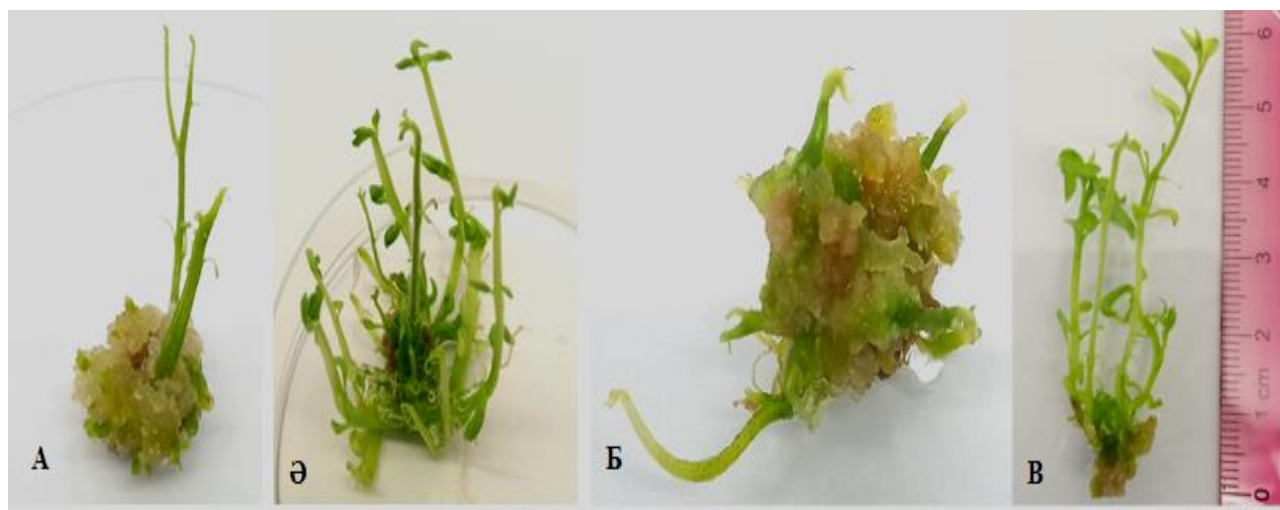
Кейбір талдау жасалынған ғылыми мақалаларда көрсетілген мәліметтер бойынша, МС қоректік ортасында БАП 3,0 мг/л және НСК 2,0 мг/л қанықпалары картоп экспланттарынан каллус түзу жиілігі 87,5%, ал БАП 2,0 мг/л және ГҚЗ 0,25 мг/л комбинациясында 90% регенерациялық қабілетіне ие болған [7]. Kufri Juoti сұрыпының жапырақ және сабақ экспланттары құрамында БАП 4,0 мг/л және НСК 1,0 мг/л бар қоректік ортасында каллус түзілу жиілігі 100% құрған. Каллустың тікелей емес регенерациясын индукциялау үшін құрамында БАП 5,0 мг/л және ГҚЗ 1,0 мг/л бар МС ортасына көшіріліп, нәтижесінде (80,09%) тікелей емес регенерацияға қол жеткізген [8]. Жоғарыда келтірілген нәтижелер Дакка және т.б. тұжырымымен [9] расталып, каллустың өскін индукциясы үшін БАП және ГҚЗ комбинациясы қажет екендігі анықталған.



Сурет 3. Тоқтар сұрыпының тікелей емес регенерациясы:

1 айдан кейінгі (А) және 2 айдан кейінгі (Б) каллус ұлпалары, Б – 3 айдан соң каллустардан пайда болған регенеранттар

Біздің зерттеу жұмысымыздың нәтижесінде, каллус ұлпасынан регенерация үрдісін қоздыруда қоректік ортаның нұсқасына байланысты 1-ден 23-ке дейін регенеранттар алынды. Мысалы, Ақсор сұрыпында 27 каллустан 42 регенерант-өсімдік, Тоқтар сұрыпында 51 каллустан 166 регенерант-өсімдік, Астаналық сұрыпында 23 каллустан 59 регенерант-өсімдік алынды. Бір каллустан алынған регенеранттар 4-суретте және 3-кестеде көрсетілген.



Сурет 4. Тікелей емес регенерация: А – Ақсор, Ә – Тоқтар және Б – Астаналық сұрыптарының бір каллустан шыққан регенеранттар көрінісі, В – Тоқтар сұрыпынан алынған 1 айлық регенерант-өсімдік

3 кесте

Отандық картоп сұрыптарының морфогенезі

Сұрып атауы	Каллус жалпы саны, дана	Морфогенді каллус жиілігі, %	Өсімдік регенерант алынған каллус жиілігі, %	Бір каллустан шыққан регенеранттың орта саны, дана
Ақсор	203	41,8 ± 2,75	31,7 ± 2,41	1,55
Тоқтар	187	60,4 ± 1,56	45,1 ± 1,91	3,25
Астаналық	136	44,1 ± 2,04	38,3 ± 1,56	2,57

Зерттеу нәтижесінде, морфогенді каллус түзу жиілігі (60,4%) мен бір каллустан шыққан регенеранттардың орта саны (3,25) бойынша ең жоғары көрсеткіш Тоқтар сұрыпында болғандығы анықталды. Ақсор (41,8%) және Астаналық (44,1%) сұрыптарында морфогенді каллус түзу жиілігі төмен нәтиже көрсетті, сәйкесінше бір каллустан алынған регенеранттар саны 1,55 және 2,57 болды. Тікелей емес регенерацияға қабілеттілігі Тоқтар (45,1%) сұрыпында Астаналық (38,3) және Ақсор (31,7) сұрыптарына қарағанда жоғары болды.

Қорытынды

In vitro жағдайында отандық картоп сұрыптарының каллусогенез және тікелей емес регенерацияға қабілеттілігі зерттелді. Зерттеу нәтижелері бойынша, құрамында 2,0 мг/л БАП және 3,0 мг/л НСҚ бар қоректік ортаның екінші нұсқасы Ақсор және Тоқтар сұрыптары үшін, ал құрамында 4,0 мг/л БАП және 1,0 мг/л НСҚ бар қоректік ортаның бесінші нұсқасы Астаналық

сұрыпы үшін картоптың сабақ экспланттарының каллус түзу жиілігіне тиімді екені анықталды. Регенерацияға арналған құрамында БАП 0,5 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚз 2,0 мг/л бар қоректік ортаның үшінші нұсқасы Аксор (53,3%) және Тоқтар (77,8%) сұрыптары үшін оңтайлы екені анықталды. Астаналық сұрыпы (60,9%) құрамында ИСК 0,1 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГҚз 10,0 мг/л бар қоректік ортаның төртінші нұсқасында жоғары көрсеткішке ие болды. Бір каллустан алынған регенеранттардың орта саны (3,25) және регенерацияға қабілеттілігі бойынша ең жоғары көрсеткіш Тоқтар (45,1%) сұрыпында анықталды. Зерттеуде қолданылған отандық картоп сұрыптарының каллус ұлпаларынан өскіндер алу биотехнологияның дамуына бағытталған гендік-инженерлік жұмыстардың табысты болуына көмектеседі.

Қаржыландыру. Бұл жұмыс Қазақстан Республикасы Білім және Ғылым министрлігінің гранттық қолдауымен жүзеге асырылды (грант нөмірі: AP09259964).

Әдебиеттер тізімі

1. Engel F. Exploration of the Chilca Canyon, Peru // Current Anthropol. – 1970. – Vol.11. – P.55-58.
2. Koleva G.L. Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L. // Electronic Journal of Biology. – 2012. – Vol. 8. – P. 45-49.
3. Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений // Учебное пособие. — Павлодар: Кереку, 2009. – 272с.
4. Шарова А.П., Давыдова Ю.В. Мелик-Саркисов О.С. Морфогенетическая активность различных типов эксплантов картофеля в культуре *in vitro*// Биотехнология. – 1995. – №12. – С. 1518.
5. Yasmin S., Nasiruddin K.M., Begum R. and Talukder V. Regeneration and Establishment of Potato Plantlets Through Callus Formation with BAP and NAA // Asian Journal of Plant Sciences. – 2003. – Vol. 2. – P. 936-940.
6. Hajare S., Chauhan N. and Kassa G. Effect of Growth Regulators on *In Vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete Varieties from Ethiopia // The Scientific World Journal. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1-8.
7. Kumlay A. and Ercisli S. Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions // Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 2015. – Vol. 29. – P. 1075-1084.
8. Rawat T., Bendehakkalu K., and. Anil V. Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti // IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry. – 2017. – Vol. 3. – P. 31-34.
9. Manisha D. and Tapan K.N. High efficiency macropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills // Journal of Plant Breeding and Crop Science. – 2015. – Vol. 7. – №7. – P. 203-210.

Б.Р. Кали, А.О. Рахимжанова, Ш.А. Манабаева

Национальный центр биотехнологии, Нур-Султан, Казахстан

Непрямая регенерация отечественных сортов картофеля

Аннотация. В статье в качестве объекта исследования были взяты три вида отечественных сортов картофеля: Аксор, Тохтар и Астаналык. Исследуемые сорта оценивались по тенденции каллусогенеза и способности к непрямой регенерации в условиях *in vitro*. В результате этих проведенных экспериментов было изучено действие фитогормонов. Целью нашего эксперимента было изучение зависимости процессов каллусогенеза и непрямой регенерации сортов картофеля

от различных регуляторов роста. В результате исследования было установлено, что интенсивность образования каллусов из стеблевых эксплантатов была эффективной для сортов Аксор (93%) и Тохтар (87%) в питательной среде МСК II, содержащей 2,0 мг/л БАП и 3,0 мг/л НУК, а вариант МСК V, содержащий 4,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК, был оптимальным для сорта Астаналык (82,5%). Частота регенерации в питательной среде МСР III, содержащей БАП 0,5 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГКз 2,0 мг/л, составила 53,3% и 77,8% в сортах Аксор и Токтар. У сорта Астаналык частота регенерации составила 60,9% в питательной среде МСР IV, содержащей ИУК 0,1 мг/л, транс-зеатин 1,0 мг/л, ГКз 10,0 мг/л. В результате исследований выявлена высокая способность отечественных сортов картофеля к регенерации через каллусогенез.

Ключевые слова: картофель, *in vitro*, эксплант, каллус, непрямая регенерация.

B.R. Kali, A.O. Rakhimzhanova, Sh.A. Manabayeva
National Center for Biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

Indirect regeneration of local potato varieties

Abstract. The study considers three local strains of potato such as Aksor, Tokhtar, Astanalyk. Strains were investigated on the tendency of callusogenesis and ability of indirect *in vitro* regeneration. As a result of the investigation, there was studied the function of phytohormones. The aim of the experiment was to study the dependence of the callus formation and indirect regeneration of potato strains from the growth regulators. It was identified that the intensity of the callus formation from the stem explants were effective for the Aksor (93%) and Tokhtar (87%) strains in MSK II growth medium, containing 2,0 mg/l BAP and 3,0 mg/l NAA, and variation MSK V, containing 4,0 mg/l BAP and 1,0 mg/l NAA, were optimal for the Astanalyk (82.5%) strain. Frequency of regeneration in MSR III growth medium, containing 0.5mg/l BAP, trans-zeatin 1.0 mg/l, GA3 2.0 mg/l, was 53,3% and 77,8% in Aksor and Tokhtar, respectively. Astanalyk strain showed 60,9% regeneration in MSR IV growth medium, containing IAA 0,1 mg/l, trans-zeatin 1.0 mg/l, GA3 10.0 mg/l. The study concluded that local potato strains have a high ability for callus formation and indirect regeneration.

Keywords: potatoes, *in vitro*, explants, callus, indirect regeneration.

References

1. Engel F. Exploration of the Chilca Canyon, Peru Current Anthropol., 11, 55-58 (1970).
2. Koleva G.L. Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L., Electronic Journal of Biology, 8, 45-49 (2012).
3. Valihanova G.ZH. Biotekhnologiya rastenij [Biotechnology of plants], Uchebnoe posobie [Textbook]. (Pavlodar, Kereku, 2009, 272 p.). [in Russian]
4. SHarova A.P., Davydova YU.V. Melik-Sarkisov O.S. Morfogeneticheskaya aktivnost' razlichnyh tipov eksplantov kartofelya v kul'ture *in vitro* [Morphogenetic activity of various types of potato explants in *in vitro* culture], Biotekhnologiya [Biotechnology], 12, 1518 (1995). [in Russian]
5. Yasmin S., Nasiruddin K.M., Begum R. and Talukder V. Regeneration and Establishment of Potato Plantlets Through Callus Formation with BAP and NAA, Asian Journal of Plant Sciences, 2, 936-940 (2003).
6. Hajare S., Chauhan N. and Kassa G. Effect of Growth Regulators on *In Vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete Varieties from Ethiopia, The Scientific World Journal, 2021, 1-8 (2021).
7. Kumlay A. and Ercisli S. Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29, 1075-1084 (2015).

8. Rawat T., Bendehakalu K., and. Anil V. Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti, *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3, 31-34 (2017).

9. Manisha D. and Tapan K.N. High efficiency macropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills, *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 7(7), 203-210 (2015).

Авторлар туралы мәлімет:

Қали Б.Р. – «Ұлттық биотехнология орталығы» Өсімдіктердің генетикалық инженериясы зертханасының кіші ғылыми қызметкері, жаратылыстану ғылымдарының магистрі, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Рахимжанова А.О. – «Ұлттық биотехнология орталығы» Өсімдіктердің генетикалық инженериясы зертханасының ғылыми қызметкері, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Манабаева Ш.А. – Биология ғылымдарының кандидаты, «Ұлттық биотехнология орталығы» Өсімдіктердің генетикалық инженериясы зертханасының меңгерушісі, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті жалпы биология және геномика кафедрасының доценті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Kali B.R. – Junior researcher of the Plant Genetic Engineering laboratory in the National center for biotechnology, Master of Science, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Rakhimzhanova A.O. – Researcher of the Plant Genetic Engineering laboratory in the National center for biotechnology, Master of engineering and technology, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Manabayeva Sh.A. – Candidate of Biological Sciences, Head of the Plant Genetic Engineering laboratory in the National center for biotechnology, associate professor at the Department of General Biology and Genomics in the L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

А.С. Нұртаза^{1,2}, А.К. Есимсеитова¹, В.К. Каримова¹, Г.К. Мағзұмова¹,
Б.Н. Бақтыбай¹, С.Ж. Кабиева¹, А.А. Какимжанова^{1*}

¹Национальный центр биотехнологии, Нур-Султан, Казахстан

²Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

*Автор для корреспонденции: kakimzhanova@biocenter.kz

Оптимизация факторов, влияющих на адаптацию и рост растений в почвогрунте редкого вида *Malus niedzwetzkyana*

Аннотация. Для озеленения городов и населенных пунктов предусматривается посадка декоративного и редкого вида дикой яблони - *Malus niedzwetzkyana*. Для получения качественного посадочного материала широко используется метод микроклонального размножения. В этом исследовании были оптимизированы условия адаптации и активного роста микропобегов *Malus niedzwetzkyana* в условиях оранжереи и теплицы, полученные микроклональным размножением. Для адаптации, укорененные микропобеги высаживали в почву с разным pH. Результаты показали, что оптимальным условием для адаптации микропобегов является нейтрализованный торф с перлитом, а для полива оптимальным раствором является KNO₃, где приживаемость составила 95%. Для дальнейшего роста в условиях теплицы были изучены 3 вида удобрения для полива: карбамид (азот), суперфосфат (фосфор), сульфат калия (калий).

Высокая приживаемость и наибольший прирост по всем параметрам у *Malus niedzwetzkyana* были получены при поливе удобрением с фосфором. Также был проведен анализ генетической идентичности между материнским деревом и полученными клонами. SSR-анализ с использованием маркеров Hi04a08, CN444542, Aj000761 показал полную идентичность между исходным деревом и полученными клонами. Это подтверждает, что микроклональное размножение *Malus niedzwetzkyana* является эффективным методом для получения генетически стабильного, здорового посадочного материала для озеленения.

Ключевые слова: микроклональное размножение, *Malus niedzwetzkyana*, торф, удобрения, SSR маркеры.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-70-85

Введение

Промышленное развитие городов является основной причиной разрушения и деградации природных ресурсов по всему миру. Урбанизация манипулирует видовым составом растений, атмосферой и почвенным покровом. Вследствие ухудшения биоразнообразия усиливается нагрузка на окружающую среду, и, соответственно, на человека. По этой причине актуальность поиска решений задач по улучшению экологического состояния городов только возрастает [1].

Один из главных методов по улучшению экологической ситуации в городах - это зеленые насаждения. Озеленение городов несет в себе экологическую и эстетическую составляющие. Так, растения очищают и увлажняют воздух, снижают уровень шума, задерживают большую часть пыли и газа [2, 3, 4].

Одним из главных инструментов в озеленении является посадка деревьев. Посадки деревьев - один из механизмов стабилизации экологической ситуации в городах. Деревья очищают окружающую среду от негативных компонентов и формируют микроклимат [5]. Однако при озеленении важно осуществить правильный подбор ассортимента. Необходимо учитывать географические и климатические условия местности, а также высаживать посадочный материал, адаптированный к местным условиям [6].

Так, для озеленения неблагоприятных почвенно-климатических условий предусматривают посадку и размножение яблони Недзвецкого, которая обладает устойчивостью к высокой и низкой температурам, болезням, загазованности и запылённости воздуха [7]. *Malus niedzwetzkyana* — декоративный вид мелкоплодной яблони [8]. Высота достигает 6 метров, бутоны пурпурно-красные. Осенняя окраска листьев коричнево-красная с пурпурной [9, 10, 11]. *Malus niedzwetzkyana* — родственник домашней яблони, является важным компонентом орехово-плодовых лесов в Средней Азии [12.]. Это дерево богато полифенолами, флавоноидами и полисахаридами, которые поддерживают здоровье и уменьшают частоту хронических заболеваний благодаря антиоксидантным свойствам [13]. На сегодняшний день яблоня Недзвецкого является видом, занесенным в Красную книгу Казахстана [14] и в Международный Красный лист в статусе исчезающего вида [15].

Помимо декоративности и редкости вида, массовая высадка яблони имеет ряд других преимуществ. Яблони способствуют сохранению почвенной влаги, улучшают водный режим почвогрунтов и создают благоприятные микроклиматические и почвенные условия. Более того, благоприятно влияют на плодородие почвы. В опаде яблоневых фитоценозов содержание СаО (5,2%), MgO (0,4%), SiO₂ (2,1%), Fe₂O₃ (0,3%) и Al₂O₃ (0,3%) больше, чем в зеленых листьях. Так, плодовые культуры возвращают в почву гораздо больше СаО, MgO, P₂O₅, чем открытые участки, поэтому и в почве под плодовыми насаждениями эти элементы накапливаются в большем количестве. Также установлена закономерность улучшения микроклимата территории и увеличения плодородия горных черноземов [16]. Более того, яблоня Недзвецкого является эндемичным видом. Ареалом произрастания является Казахстан, Кыргызстан и Китай. Она приспособлена к росту в горных местностях и к местному климату [9, 17].

Таким образом, посадка яблони Недзвецкого для озеленения городов является распространенной практикой. Благодаря устойчивости к неблагоприятным условиям, декоративности вида в течение всего года яблоня Недзвецкого позволяет создавать эстетически красивые композиции и улучшать облик территории [18, 19, 20].

Однако, несмотря на все преимущества, существуют проблемы при получении посадочного материала. Например, размножение черенками зависит от времени года и ограниченным количеством. Размножение семенами напрямую зависит от сезона и очень трудоёмко. Более того, у яблони Недзвецкого происходит расщепление фенотипических признаков при размножении семенами, а черенки трудно укореняются [21, 22].

В связи с этим желательно использовать микроклональное размножение для массового размножения и улучшения посадочного материала. Микроклональное размножение имеет много плюсов: получение большого объема размноженного материала; улучшение посадочного материала; независимость от времени года; поддержка ценных видов в культуре *in vitro*; получение однородное потомство клонов от исходных деревьев [23, 24, 25].

Целью настоящей работы являлась оптимизация условий адаптации и активного роста сеянцев яблони Недзвецкого в почвогрунте для получения качественного и оздоровленного посадочного материала.

Материалы и методы

В качестве материала исследования были использованы укорененные микрорастения, полученные с помощью микроклонального размножения. Для получения укорененных микропобегов использовали однолетние побеги яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*), произрастающей в парке «Времена года» города Нур-Султан.

Микропобеги были размножены в Национальном центре биотехнологии по разработану нами протоколу по микроклональному размножению. Для введения в культуру *in vitro* и

мультипликации микропобегов была использована питательная среда *Quoirin&Lepoivre* (Q&L) с добавлением гормонов 0,5 мг/л бензиламинопурина (БАП) и 0,01 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК). Укоренение проводили на 1/2 Q&L с 10 мг/л сахарозы и 1,0 мг/л ИМК.

Адаптация микропобегов

Для адаптации использовали укорененные микрорастения яблони Недзвецкого высотой 3-6 см с несколькими основными корнями. Перед высадкой в почвенный субстрат корни микрорастений промывали от остатков агара в слабом растворе марганцовокислого калия. Для подбора условий адаптации микрорастения высаживали в грунт универсальный (pH 5.5), торф нейтрализованный (pH 6.5) и перлит. Так, были изучены следующие варианты почвенного субстрата: I - грунт; II - грунт с перлитом (2:1); III - торф; IV - торф с перлитом (2:1).

Кроме того, для лучшей адаптации подбирали растворы для полива сеянцев. Было изучено 4 варианта полива для адаптации и ускорения роста сеянцев: I вариант – вода (контроль); II вариант - раствор питательной среды 1/2QL; III вариант - раствор KNO₃ (0,9 г/л); IV вариант - коммерческое удобрение «Биосок». «Биосок» - микробиологический биостимулятор роста, защиты и развития гуминовых органико-минеральных удобрений инсталляции. Экстракт биогумуса, обогащенный азотом и калием, содержит гумин, фульвокислоты, фитогормоны, соединения антибиотиков, микроэлементы.

Сеянцы выращивали в оранжерее при температуре 24-26°C, освещенности 4500 люкс, 16-часовым фотопериодом в течение 15 дней с момента высадки в почву под пленкой для поддержания оптимальной влажности, а затем через 15 дней пленку снимали и дальше выращивали в оранжерее. Морфометрические показатели сеянцев были сняты в первый день и 30-й день адаптации в почвогрунте.

Изучение влияния удобрений на активный рост сеянцев в условиях теплицы

Адаптированные сеянцы в почвогрунте были перенесены в условия пленочной теплицы. Затем было изучено влияние удобрений на рост и развитие сеянцев в условиях теплицы. Использовали три вида удобрений: карбамид (N 46,2%), суперфосфат гуминизированный (P₂O₅ 26%) и сульфат калия (K₂O 50%).

Эксперимент проводили на 4-х вариантах опыта: I вариант - контроль (вода), II вариант – карбамид (азот), III вариант – суперфосфат (фосфор), IV вариант – сульфат калия (калий). В промежутках между поливом удобрениями поливали водой. Удобрения предварительно растворяли в воде и поливали каждые 15 дней. Морфометрические замеры проводили по высоте побега, количеству листьев и диаметру кроны. Растения выращивали в условиях пленочной теплицы, где температура поддерживалась в пределах 23-27°C. По истечении 75 дней посадочный материал был пересажен в открытый грунт.

Идентификация сеянцев с помощью SSR-маркеров

Для генетической идентификации исходного дерева и полученных сеянцев *M. niedzwetzkyana* были использованы 3 SSR маркера: Hi04a08, CN444542, Aj000761-SSR. Листья для выделения ДНК отбирали у исходного дерева и сеянцев, растущих в почвогрунте теплицы.

Листья 10 сеянцев с теплицы независимых случайных растений были отобраны с использованием стерильного скальпеля. ДНК экстрагировали с использованием модифицированного метода СТАВ. Качество и количество экстрагированной ДНК проверяли с помощью ультрафиолетового спектрофотометра (NanoDrop1000, Thermo Fisher Scientific, США) и каждый образец разбавляли до 30 нг/мкл в стерильной дистиллированной воде. ПЦР-амплификацию проводили при температуре отжига 60°C (95°C в течение 2 мин; 10 циклов по 95°C в течение 30 с, 60°C в течение 1 мин, 72°C в течение 1 мин; 20 циклов по 90°C в течение 30 с,

60° С в течение 1 минуты, 72°С в течение 1 минуты и 72°С в течение 30 минут). Фрагменты разделяли с использованием автоматического генетического анализатора ABI3730xl (Applied Biosystems), используя полимер POP7 и стандарт размера GeneScan™ 500LIZ®; их размер был проанализирован с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems). Программное обеспечение GeneMarker® v 2.2.0 использовали для определения размера амплифицированного фрагмента.

Статистический анализ

Результаты исследований были подвергнуты дисперсионному анализу и значимые различия были выбраны с использованием апостериорного теста Тьюки с помощью пакета SPSS 23.0. (IBM Inc., New York, USA). Данные выражены в среднем значении ± стандартная ошибка трех независимых экспериментов.

Результаты и обсуждение

Адаптация микропобегов

Одним из стрессовых этапов микроклонального размножения является адаптация к нестерильным условиям. Растения в культуре *in vitro* выращиваются на искусственных средах, богатых неорганическими и органическими питательными веществами, сахарозой и регуляторами роста. Растения поддерживаются при высокой влажности в культуральных сосудах, где происходит слабый газообмен. В этих неестественных условиях растения хорошо растут и размножаются, но имеют анатомические, цитологические и физиологические изменения, которые требуют тщательного подбора условий акклиматизации [23].

Нашей задачей было получить здоровый и физиологически развитый посадочный материал. В свою очередь оздоровление посадочного материала осуществляется благодаря микроклональному размножению. В то время как хороший рост в почве зависит от условий выращивания. Так, для оптимизации условий адаптации было изучено 4 варианта субстрата в условиях оранжереи. Было изучено 2 субстрата с разными рН показателями и с/без добавления перлита. рН почвы является наиболее информативным измерением, которое можно сделать для почвы. От кислотности или щелочности почвы зависит доступность питательных веществ для растений [26, 27].

Как показали результаты, успех адаптации растений зависит от условий роста. Так, для яблони Недзвецкого комфортной почвой является нейтрализованный торф с перлитом, где приживаемость составила 90%. Использование торфа без перлита показало приживаемость 78%, почва быстро просыхала и требовала более частого полива. При использовании грунта была получена низкая приживаемость только 20% и 34% (таблица 1, рисунок 1). Такие результаты могут быть связаны с уровнем рН почвы. Известно, что в большинстве случаев нейтрализованный торф является наиболее благоприятным для роста растений. Так, для выращивания саженцев *M.prunifolia*, *M.robusta* и *M.hupehensis* авторы рекомендуют рН от 5.5 до 7.0 [28].

Таблица 1

Приживаемость сеянцев *M.niedzwetzkyana* на этапе адаптации

Вариант	Приживаемость, %
I - Грунт	20%
II - Грунт с перлитом (2:1)	34%
III - Торф	78%*
IV - Торф с перлитом (2:1)	90%*

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



Рисунок 1. Адаптация микропобегов *M.niedzwetzkyana* в торфе с перлитом

Также были изучены условия полива сеянцев для адаптации и роста растений в условиях оранжереи. Растения нуждаются в микро- и макроэлементах. Отсутствие или недостаток любого макроэлемента или микроэлемента приводит к снижению роста, болезням или гибели. В связи с этим главная задача – обеспечить растения всеми необходимыми веществами для их полноценного роста и развития. Так, было исследовано 4 варианта полива: I – вода (контроль); II – $\frac{1}{2}QL$; III – раствор KNO_3 ; IV – коммерческое удобрение «Биосок».

Высокая приживаемость и наибольший прирост по всем показателям были получены при поливе сеянцев яблони Недзвецкого раствором KNO_3 . Приживаемость составила 95%. Средний прирост в высоте побега 4,48 см, в диаметре крона 4,12 см и количество листьев увеличилось на 5,67 шт и сеянцы имели сочно-зеленый цвет. Эти показатели демонстрируют положительную динамику в физиологическом развитии растений. Наблюдалось вытягивание побега в высоту, увеличение размера листовой пластины (таблица 2, рисунок 2).

Так, можно заключить, что на этапе адаптации сеянцем яблони Недзвецкого необходимы калий и азот. В литературе нитраты определены как подземная сигнальная молекула, контролирующая структуру ветвления корней. Из чего следует, что нитраты крайне необходимы для развития и ветвления боковых корней [29, 30]. Калий является важным элементом в тургорном давлении и регуляции устьиц. Он поглощается растениями в крупных количествах, после азота. Например, калий отмечают как важное вещество для роста сельскохозяйственных культур [31, 32]. Его роль в фотосинтезе хорошо известна – увеличение ферментативной активности, улучшение синтеза белков, углеводов и жиров, в результате чего происходит перемещение фотосинтетических веществ, повышение урожайности, а также общего здоровья и жизнеспособности растений [33]. Более того, калий особенно важен для адаптации растений к стрессам окружающей среды, таким как засуха, зимостойкость, устойчивость к болезням, насекомым-вредителям и морозостойкость [34]. Он также участвует в активации ферментов, важных для использования энергии, синтеза крахмала, метаболизма азота и дыхания [32].

Таблица 2
Подбор раствора для полива сеянцев *M.niedzwetzkyana* в оранжерее

Вариант	Прижи- ваемост ь, %	День 30			Прирост		
		Длина, см	Листья, шт	Крон, см	Длина, см	Листь я, шт	Крон, см
I – вода (контроль)	60	3,24±0,02*	7,44±0,14*	4,70±0,04*	2,08	3,04	2,37

II - ½QL	76	4,23±0,07*	8,62±0,02*	6,32±0,02*	3,05	4,18	3,98
III - раствор KNO ₃	95	5,64±0,02*	9,83±0,02*	6,44±0,03*	4,48	5,67	4,12
IV - удобрение «Биосок»	80	3,57±0,03*	7,02±0,15*	5,26±0,03*	2,39	2,84	2,90

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



а – Сеянцы в день высадки



б – Сеянцы на 30-ый день после высадки

Рисунок 2. Рост сеянцев *M.niedzwetzkyana*, политые раствором KNO₃

60% приживаемости получено на контрольном варианте, где отсутствовала подкормка и сеянцы поливали водой. В приросте по морфометрическим параметрам контрольный вариант показал положительную динамику, однако большой выпад является экономически не выгодным (таблица 2).

Комплексные удобрения в виде раствора питательной среды и коммерческого удобрения показали схожие результаты. Приживаемость растений составила 76% и 80%. Прирост был похож с контрольным вариантом. Так, можно заключить, что влияние макро и микроэлементов различно. Например, марганец, благодаря ингибирующему эффекту на укоренение следует использовать в минимальных концентрациях. Исключение бора позволило улучшить укоренение черенков *Eucalyptus globulus* на 10% [35]. Противоположно, цинк необходим для укоренения растений, он увеличивает эндогенное содержание ауксинов [36, 37]. Кальций, который входит состав комплекса, играет важную роль в процессе укоренения, главным образом потому, что он действует как активатор роста корней [38]. Укоренение черенков *Populus*, выращенных *in vitro*, ингибировалось из-за удаления кальция [39].

Таким образом, влияние макро и микроэлементов на развитие растений является очевидным и задокументированным, однако остается неоспоримым, что для разных генотипов на разных этапах развития растений необходимо подбирать элементы индивидуально [36, 38, 40, 41, 42].

Изучение влияния удобрений на активный рост сеянцев в условиях теплицы

После адаптации и закаливания растений в условиях оранжереи сеянцы перевели в условия пленочной теплицы. Для активного роста и развития в условиях теплицы были исследованы 3 основных элемента, необходимые растениям: азот, фосфор и калий.

Подкормки, содержащие азот, фосфор и калий, используются во всем мире для повышения роста и урожайности сельскохозяйственных культур [43]. Например, при выращивании манго использование калия положительно влияет на увеличение площади листьев, а также на содержание минеральных веществ и повышение урожайности [44]. А при использовании только азота и фосфора, наблюдается серьезное снижение урожая [45].

В результате исследований наилучшие результаты эксперимента наблюдали при использовании суперфосфата (фосфор) у сеянцев яблони Недзвецкого, где на 75-й день прирост растений составил 25,50 см, по количеству листьев 13,32 шт и диаметру кроны 12,38 см (таблица 3, рисунок 3). Фосфор является вторым важным макроэлементом для роста растений после азота. У *Arabidopsis* увеличение уровня фосфата стимулировало первичное удлинение корня [46].

Сравнительный прирост наблюдали при подкормке сульфатом калия (калий). В высоту побега наблюдали прирост в 14,81 см, в диаметре крона 10,05 см и количество листьев увеличилось на 11,42 шт. При использовании карбамида (азот) значительных изменений не наблюдали. В целом умеренный дефицит азота может улучшить укоренение [38], но с другой стороны, дефицит азота может снизить укоренение, поскольку он необходим для синтеза нуклеиновых кислот и белка [38, 41].

Однако нужно учитывать, что в рамках нашей работы при адаптации сеянцы яблони Недзвецкого поливались нитратом калия. Это помогает растениям адаптироваться к новым условиям и увеличить физиологические показатели. И при выращивании в теплице сеянцы нуждаются в другом элементе. Так, было установлено, что лучше всего растения яблони Недзвецкого развиваются при использовании в качестве удобрения суперфосфата.

Таблица 3

Подбор удобрений для быстрого роста сеянцев в теплице

Вариант	День 75			Прирост		
	Длина, см	Листья, шт	Крон, см	Длина, см	Листья, шт	Крон, см
I – Вода (контроль)	10,93±0,04*	12,86±0,02*	9,65±0,01*	7,69	5,46	4,91
II – карбамид (азот)	16,53±0,02*	18,51±0,05*	14,42±0,02*	12,31	9,89	8,09
III – суперфосфат (фосфор)	31,13±0,09*	23,10±0,08*	18,78±0,02*	25,50	13,32	12,38
IV – сульфат калия (калий)	18,39±0,03*	18,46±0,16*	15,30±0,03*	14,81	11,42	10,05

* Средняя разница значима на уровне 0,05. Менее значимая разница не показана.



а – сеянцы, политые водой (контроль)



б – сеянцы, политые суперфосфатом (фосфор)

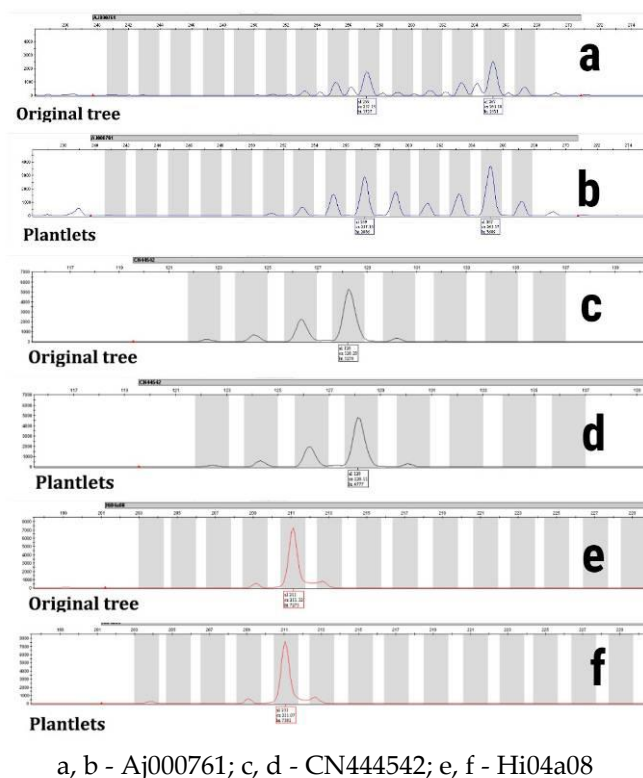
Рисунок 3. Влияние удобрений на рост сеянцев яблони Недзвецкого

Сеянцы выращивались в условиях теплицы в течение 4 месяцев. Далее сеянцы пересадили в открытый грунт в питомник РГП «Жасыл Аймак». Так, было высажено 1018 сеянцев, высотой от 20 см. В течение двух лет сеянцы показали хороший рост, приживаемость составила 85%.

Идентификация сеянцев с помощью SSR-маркеров

Эффективность SSR маркеров обуславливается широкой сферой применения. SSR-маркеры были использованы для филогенетического анализа дикой и домашней яблони [47]. В другом исследовании восемь SSR-локусов яблони были использованы для определения генотипов коллекции одомашненных яблок [48, 49]. SSR успешно использованы для характеристики сортов яблони, для определения отношений между родителями и потомками [50]. Также авторами подтверждена эффективность использования SSR-локусов для определения степени сходства коммерческих сорта *M. domestica*, у которых было амплифицировано 84 полиморфных аллеля [51].

С помощью SSR-маркеров Hi04a08, CN444542, Aj000761-SSR изучили генетическую идентичность между исходным деревом и сеянцами этого исходного дерева, полученные с помощью микроклонального размножения. SSR-анализ показал отсутствие генетических отличий между исходным деревом и сеянцами (рисунок 4). Результаты идентификации показывают одинаковые размеры аллеля в локусах. Так, в локусе Hi04g05 размер составил 239, 259 п.н.; CN444542 128 п.н.; Aj000761 257 и 265 п.н.



a, b - Aj000761; c, d - CN444542; e, f - Hi04a08

Рисунок 4. Результаты SSR- анализа

Таким образом, SSR- анализ генетической идентичности между материнским растением и размноженными сеянцами показал полную идентичность между образцами. Это подтверждает, что микроклональное размножение *M. niedzwetzkyana* является эффективным методом для получения генетически стабильного посадочного материала.

Выводы

Таким образом, были подобраны условия адаптации стерильных микропобегов *Malus niedzwetzkyana* для получения посадочного материала. Так, в условиях оранжереи, высокий процент приживаемости был получен при использовании нейтрализованного торфа с перлитом, а для полива оптимальным раствором является KNO_3 , где приживаемость составила 95%. Для индукции роста в условиях теплицы наилучшим раствором для полива является суперфосфат. При поливе данным раствором была отмечена положительная динамика по всем исследуемым параметрам. Также был проведен анализ генетической идентичности между материнским деревом и полученными клонами. Результаты показали, что полученные клоны являются полностью идентичными с материнским деревом.

Финансирование. Работа была выполнена в рамках проекта AP09563185 «Разработка криобиотехнологии исчезающих видов растений яблони Сиверса (*Malus sieversii*) и яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*) для сохранения и воспроизводства» на 2021 г., финансируемого МОН РК.

Список литературы

1. Imam A.U.K., Banerjee U.K. Urbanisation and greening of Indian cities: Problems, practices, and policies // *Ambio*. – 2016. – Vol.45. – №. 4. – P. 442-457.
2. Jim C.Y. Sustainable urban greening strategies for compact cities in developing and developed economies // *Urban Ecosystems*. – 2013. – Vol.16. – №. 4. – P. 741-761.
3. Carinanos P., Calaza-Martínez P., O'Brien L., Calfapietra C. The cost of greening: disservices of urban trees // *The Urban Forest*. – 2017. – Vol. 7 – P. 79-87.
4. Jennings V., Browning M.H.E.M., Rigolon A. Urban Green Spaces: Public Health and Sustainability in the United States. – Springer International Publishing, 2019. – P. 8.
5. Rey Benayas J.M., Bullock J.M. Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land // *Ecosystems*. – 2012. – Vol. 15. – P. 883-899.
6. Kaya L.G., Kaynakci-Elinc Z., Yucedag C., Cetin M. Environmental outdoor plant preferences: a practical approach for choosing outdoor plants in urban or suburban residential areas in Antalya, Turkey // *Fresenius Environmental Bulletin*. – 2018. – № 27(12). – P. 7945-7952.
7. Шалпыков К.Т., Долотбаков А.К. Разнообразие форм Яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana*) в южном Кыргызстане // *Proc. of int. conf. "Diversity, characterization and utilization of plant genetic resources for enhanced resilience to climate change"*. – Baku, 2011. – P.116-117.
8. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China // *Genet Resour Crop Evol*. – 2007. – № 55. – P. 171-181.
9. Ji X.H., Wang Y.T., Zhang R., Wu S.J., An M.M., Li M., Chen X.S. Effect of auxin, cytokinin and nitrogen on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2015. – № 120(1). – P. 325-337.
10. Reim S., Flachowsky H., Michael M., Hanke M-V. Assessing gene flow in apple using a descendant of *Malus sieversii* var. *sieversii* f. *niedzwetzkyana* as an identifier for pollen dispersal // *Environ Biosafety Res*. – 2006. – № 5(89). – 104 p.
11. Wang N., Zhang Z., Jiang S., Xu H., Wang Y., Feng S., Chen X. Synergistic effects of light and temperature on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2016. – № 127. – P. 217-227.

12. Wilson B., Mills M., Kulikov M., Clubbe C. The future of walnut–fruit forests in Kyrgyzstan and the status of the iconic Endangered apple *Malus niedzwetzkyana* // *Oryx*. – 2019. – № 53(3). – P. 415-423.
13. Yang M., Che S., Zhang Y., Song W., Yan G., Yu W. *Malus niedzwetzkyana* (Dieck) Langenf transcriptome comparison and phylogenetic analysis with *Malus sieversii* (Ledeb) Roem // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2020. – Vol. 67(2). – P. 313-323.
14. Тахтаджяна А.Л. Красная книга. Дикорастущие виды флоры СССР, нуждающиеся в охране: – Наука: Ленинград, 1975. – 204 с.
15. International Union for Conservation of Nature. [Электронный ресурс] – URL: <http://www.iucnredlist.org/search>. (дата обращения: 29.10.2021).
16. Джангалиев А.Д. Дикая яблоня Казахстана: – Наука: Алма-Ата, 1977. – 276 с.
17. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2008. – Vol. 55(1) – P. 171-181.
18. Шестак К.В. Evaluation of ornamental characteristics of vegetative development of the introducents in the Arboretum of Reshetnev University // *Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений*. – 2020. – Т. 23. – С. 149-152.
19. Yan F., Yu-min Y.A.N. Applications of *Malus pumila* var. *niedzwetzkyana* Schneid in Gardens of Northern China // *Heilongjiang Agricultural Sciences*. – 2012. – Vol. 3. – P. 99-101.
20. Yushkov A.N., Saveleva N.N., Borzykh N.V., Zemisov A.S., Chivilev V.V., Vislobokov A.V. Special characteristics of water regime of high-potential decorative varieties and forms of the genus *Malus* Mill // *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*. – 2020. – Vol. 11. – №. 10. – P. 1110-1110.
21. Фирсов Г.А., Ткаченко К.Г., Васильев Н.П., Волчанская А.В. Некоторые итоги и перспективы интродукции видов рода *Malus* mill. в ботаническом саду Петра Великого // *Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН*. – 2015. – № 13 – С.17-33.
22. Ziauka J., Kuusienė S. Multiplication and growth of hybrid poplar (*Populus alba* × *P. tremula*) shoots on a hormone-free medium // *Acta Biologica Hungarica*. – 2014. – № 65(3). – P. 346-354.
23. Bhojwani S.S., Dantu P. K. Plant tissue culture: an introductory text. – India : Springer, 2013. – №. 574.0724/B575.
24. Teixeira J.A., Kher M.M., Soner D., Nataraj M. Red sandalwood (*Pterocarpus santalinus* L. f.): biology, importance, propagation and micropropagation // *Journal of Forestry Research*. – 2019. – Vol. 30. – P. 745-754.
25. Guangjie Z., Zhanbin W., Dan W. In vitro propagation and ex vitro rooting of blueberry plantlets // *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. – 2008. – Vol. 18(2). – P. 187-195.
26. Thomas G. W. Soil pH and soil acidity // *Methods of soil analysis: part 3 chemical methods*. – 1996. – Т. 5. – P. 475-490.
27. Alewell C., Matzner E. Reversibility of soil solution acidity and of sulfate retention in acid forest soils // *Water, Air, and Soil Pollution*. – 1993. – Vol. 71 (1). – P. 155-165.
28. Deng F., Ma F., Shu H. Growth and physiological responses of five *Malus* species to the pH of hydroponic solutions // *African Journal of Agricultural Research*. – 2012. – Vol. 7. – №. 16. – P. 2519-2526.
29. De Almeida M.R., Aumond M., Da Costa C.T., Schwambach J., Ruedell C.M., Correa L.R., Fett-Neto A.G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings // *Trees*. – 2017. – Vol. 31. P. 1377-1390.
30. Leyser O., Fitter A. Roots are branching out in patches // *Trends in plant science*. – 1998. – Vol. 3(6). – P. 203-204.
31. Dampney P., Wale S., Sinclair A. Review Potash Requirements of Potatoes. Report of Agriculture & Horticulture Development Board. – Kenilworth, England, 2011. – P. 8-26.
32. Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., Nelson W.L. Soil acidity and alkalinity. Soil fertility and fertilizers // *Pearson Prentice Hall*. New Jersey. – 2005. – Vol. 7. – P. 45-96.

33. Abd El-Latif K.M., Osman E.A.M., Abdullah R., Abdel Kader N. Response of Potato Plants to Potassium Fertilizer Rates and Soil Moisture Deficit // *Advances in Applied Science Research*. – 2011. – Vol. 2. – P. 388-397.
34. Brady N.C., Weil R.R., Weil R.R. The nature and properties of soils. – Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2008. – P. 662-710.
35. Trindade H., Pais M.S. In vitro studies on Eucalyptus globulus rooting ability // *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. – 1997. – Vol. 33(1). – P. 1-5.
36. Andersen A.S. Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species // *New root formation in plants and cuttings*. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 223-253.
37. O'Neill M.A., Eberhard S., Albersheim P., Darvill A.G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth // *Science*. – 2001. – Vol. 294(5543). – P. 846-849.
38. Haissig B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings // *New root formation in plants and cuttings*. – Springer, Dordrecht, 1986. – P. 141-189.
39. Bellamine J., Penel C., Greppin H., Gaspar T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation // *Plant growth regulation*. – 1998. – Vol. 26(3). – P. 191-194.
40. Read P.E. Introduction to the symposium // *HortScience*. – 1987. – Vol. 22. – P. 736-737.
41. Hartman H.T., Kester D.E. Plant propagation: principles and practices. – Prentice-Hall, 1975. – P. 21.
42. Hansen J. Stock plant lighting and adventitious root formation // *Hort Science*. – 1986. – Vol. 2(5). – P. 746-749.
43. Shen H., He X., Liu Y., Chen Y., Tang J., Guo T. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets // *Frontiers in microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – 841 p.
44. Taha R.A., Hassan H.S.A., Shaaban E.A. Effect of different potassium fertilizer forms on yield, fruit quality and leaf mineral content of Zebda mango trees // *Middle-East Journal of Scientific Research*. – 2014. – Vol. 21(1). – P. 123-129.
45. Pervez M.A., Ayyub C.M., Shabeen M.R., Noor M.A. Determination of Physiomorphological Characteristics of Potato Crop Regulated by Potassium Management // *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. – 2013. – Vol. 50. – P. 611-615.
46. Linkohr B.I. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis // *The Plant Journal*. – 2002. – Vol. 29. – №. 6. – P. 751-760.
47. Harris S.A., Robinson J.P., Juniper B.E. Genetic clues to the origin of the apple // *Trends in Genetics*. – 2002. – Vol. 18(8). – P. 426-430.
48. Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Utilisation of identified simple sequence repeats (SSRs) in *Malus domestica* (apple) for germplasm characterization // *HortScience*. – 1996. – Vol. 31. – 619 p.
49. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. core subset collection // *Theoretical and applied genetics*. – 1998. – Vol. 97. – №. 5-6. – P. 671-683.
50. Moriya S., Iwanami H., Okada K., Yamamoto T., Abe K. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers // *Euphytica*. – 2011. – Vol. 177(1). – P. 135-150.
51. Goulão L., Oliveira, C.M. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers // *Euphytica*. – 2001. – Vol. 122(1). – P. 81-89.

А.С. Нұртаза^{1,2}, А.К. Есимсеитова¹, В.К. Каримова¹, Г.К. Магзумова¹, Б.Н. Бақтыбай¹,
С.Ж. Кабиева¹, А.А. Какимжанова¹

¹Ұлттық биотехнология орталығы, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

²Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Сирек кездесетін *Malus niedzwetzkyana* топырақта бейімделуіне және өсуіне әсер ететін факторларды оңтайландыру

Аңдатпа. Қалалар мен елді мекендерді көгалдандыру үшін жабайы алма ағашының сәндік және сирек кездесетін түрі - *Malus niedzwetzkyana* отырғызу көзделеді. Жоғары сапалы отырғызу материалын алу үшін микроклональды көбею әдісі кеңінен қолданылады. Зерттеуде микроклональды көбею нәтижесінде алынған оранжерея мен жылыжай жағдайында *Malus niedzwetzkyana* микроөркендерін бейімделу және белсенді өсу шарттары оңтайландырылды. Бейімделу үшін тамырланған микроөркендерді топыраққа әр түрлі рН-мен отырғызылды. Нәтижелер көрсеткендей, микроөркендерді бейімдеудің оңтайлы шарты - перлитпен бейтараптандырылған шымтезек, ал суару үшін оңтайлы шешім KNO_3 болып табылады, жерсінуді деңгейі 95% құрады. Жылыжай жағдайында одан әрі өсу үшін суаруға арналған тыңайтқыштың 3 түрі зерттелді: мочеви́на (азот), суперфосфат (фосфор), калий сульфаты (калий).

Malus niedzwetzkyana-да жерсінудің жоғары деңгейі және барлық параметрлер бойынша ең үлкен өсім фосформен тыңайтқышпен суару арқылы алынды. Сондай-ақ, аналық ағаш пен алынған клондар арасындағы генетикалық сәйкестілікке талдау жүргізілді. HI04A08, CN444542, Aj000761 маркерлерін қолдана отырып, SSR талдауы бастапқы ағаш пен алынған клондар арасындағы толық сәйкестікті көрсетті. Бұл *Malus niedzwetzkyana* микроклональды көбеюі генетикалық тұрақты, сау көгалдандыру материалын алудың тиімді әдісі екенін растайды.

Түйін сөздер: микроклональды көбею, *Malus niedzwetzkyana*, шымтезек, тыңайтқыш, SSR маркерлері.

A.S. Nurtaza^{1,2}, A.K. Yessimseitova¹, V.K. Karimova¹, G.K. Magzumova¹, B.N. Baktybay¹,
S.Zh. Kabieva¹, A.A. Kakimzhanova¹

¹National Center for Biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Optimization of factors affecting the adaptation and growth of plants in the soil of the rare *Malus niedzwetzkyana*

Abstract. Planting of a decorative and rare species of wild apple *Malus niedzwetzkyana* is provided for landscaping of cities. To obtain high-quality planting material, there is wide use of the method of micropropagation. In this study, there were optimized the conditions of adaptation and active growth of micro shoots of *Malus niedzwetzkyana* in the growth room and greenhouse were obtained by micropropagation. For adaptation, rooted micro shoots were planted in soil with different pH. The results showed that neutralized peat with perlite is the optimal condition for the adaptation of micro-shoots, and KNO_3 is the optimal solution for irrigation, where the survival rate was 95%. For further growth in greenhouse conditions, 3 types of fertilizers for irrigation were studied such as carbamide (nitrogen), superphosphate (phosphorus), potassium sulfate (potassium).

High survival rate and the greatest increase in all parameters in *Malus niedzwetzkyana* were obtained by watering with fertilizer with phosphorus. Also, an analysis of the genetic identity between the mother tree and the clones was carried out. SSR analysis using markers HI04a08, CN444542, Aj000761 showed complete identity between the original tree and the resulting clones. This confirms

that micropropagation of *Malus niedzwetzkyana* is an effective method for obtaining genetically stable, healthy planting material for landscaping.

Keywords: micropropagation, *Malus niedzwetzkyana*, peat, fertilizers, SSR markers.

References

1. Imam A.U.K., Banerjee U.K. Urbanisation and greening of Indian cities: Problems, practices, and policies. *Ambio*, 45(4), 442-457 (2016).
2. Jim C.Y. Sustainable urban greening strategies for compact cities in developing and developed economies. *Urban Ecosystems*, 16(4), 741-761 (2013).
3. Carinanos P., Calaza-Martínez P., O'Brien L., Calfapietra C. The cost of greening: disservices of urban trees. *The Urban Forest*, 7, 79-87 (2017).
4. Jennings V., Browning M.H.E.M., Rigolon A. *Urban Green Spaces: Public Health and Sustainability in the United States*. Springer International Publishing, 8 (2019).
5. Rey Benayas J.M., Bullock J.M. Restoration of Biodiversity and Ecosystem Services on Agricultural Land. *Ecosystems*, 15, 883-899 (2012).
6. Kaya L.G., Kaynakci-Elinc Z., Yucedag C., Cetin M. Environmental outdoor plant preferences: a practical approach for choosing outdoor plants in urban or suburban residential areas in Antalya, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(12), 7945-7952 (2018).
7. SHalpykov K.T., Dolotbakov A.K. Raznoobrazie form YAbloni Nedzveckogo (*Malus niedzwetzkyana*) v yuzhnom Kyrgyzstane. *Materialy Mezhdunarodnoj konferencii, Baku* [Variety of forms of the Niedzwetzky Apple tree (*Malus niedzwetzkyana*) in southern Kyrgyzstan. Materials of the International conference "Diversity, characterization and utilization of plant genetic resources for enhanced resilience to climate change", Baku], 116-117 (2011). [in Russian]
8. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China. *Genet Resour Crop Evol*, 55, 171-181 (2007).
9. Ji X.H., Wang Y.T., Zhang R., Wu S.J., An M.M., Li M., Chen X.S. Effect of auxin, cytokinin and nitrogen on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120(1), 325-337 (2015).
10. Reim S., Flachowsky H., Michael M., Hanke M-V. Assessing gene flow in apple using a descendant of *Malus sieversii* var. *sieversii* f. *niedzwetzkyana* as an identifier for pollen dispersal. *Environ Biosafety Res*, 5(89), 104 (2006).
11. Wang N., Zhang Z., Jiang S., Xu H., Wang Y., Feng S., Chen X. Synergistic effects of light and temperature on anthocyanin biosynthesis in callus cultures of red-fleshed apple (*Malus sieversii* f. *niedzwetzkyana*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 127, 217-227 (2016).
12. Wilson B., Mills M., Kulikov M., Clubbe C. The future of walnut-fruit forests in Kyrgyzstan and the status of the iconic Endangered apple *Malus niedzwetzkyana*. *Oryx*, 53(3), 415-423 (2019).
13. Yang M., Che S., Zhang Y., Song W., Yan G., Yu W. *Malus niedzwetzkyana* (Dieck) Langen transcriptome comparison and phylogenetic analysis with *Malus sieversii* (Ledeb) Roem. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(2), 313-323 (2020).
14. Tahtadzhyana A.L. *Krasnaya kniga. Dikorastushchie vidy flory SSSR, nuzhdayushchiesya v ohrane*. [Red Book. Wild species of flora of the USSR in need of protection]. (Nauka, 1975, 204 p.). [in Russian]
15. International Union for Conservation of Nature. [Electronic resource] – Available at: <http://www.iucnredlist.org/search>. (Accessed: 29.10.2021).
16. Dzhangaliev A.D. *Dikaya yablonya Kazahstana*. [Wild apple tree of Kazakhstan]. (Nauka, 1977, 276 p.). [in Russian]

17. Yan G., Long H., Song W., Chen R. Genetic polymorphism of *Malus sieversii* populations in Xinjiang, China. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(1), 171-181 (2008).
18. SHestak K.V. Evaluation of ornamental characteristics of vegetative development of the introducents in the Arboretum of Reshetnev University, Plodovodstvo, semenovodstvo, introdukciya drevesnyh rastenij. [Fruit growing, seed growing, introduction of woody plants], 23, 149-152 (2020). [in Russian]
19. Yan F., Yu-min Y.A.N. Applications of *Malus pumila* var. *niedzwetzkyana* Schneid in Gardens of Northern China. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 3, 99-101 (2012).
20. Yushkov A.N., Saveleva N.N., Borzykh N.V., Zemisov A.S., Chivilev V.V., Vislobokov A.V. Special characteristics of water regime of high-potential decorative varieties and forms of the genus *Malus* Mill. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*, 11(10), 1-8 (2020).
21. Firsov G.A., Tkachenko K.G., Vasil'ev N.P., Volchanskaya A.V. Nekotorye itogi i perspektivy introdukcii vidov roda *Malus* mill. v botanicheskom sadu Petra Velikogo [Some results and prospects of the introduction of species of the genus *Malus* mill. in the botanical garden of Peter the Great], *Byulleten' Botanicheskogo sada-instituta DVO RAN*, 13, 17-33 (2015). [in Russian]
22. Ziauka J., Kuusienė S. Multiplication and growth of hybrid poplar (*Populus alba* × *P. tremula*) shoots on a hormone-free medium. *Acta Biologica Hungarica*, 65(3), 346-354 (2014).
23. Bhojwani S. S., Dantu P. K. Plant tissue culture: an introductory text. (India, Springer, 2013, №. 574.0724/B575).
24. Teixeira J.A., Kher M.M., Soner D., Nataraj M. Red sandalwood (*Pterocarpus santalinus* L. f.): biology, importance, propagation and micropropagation. *Journal of Forestry Research*, 30, 745-754 (2019).
25. Guangjie Z., Zhanbin W., Dan W. In vitro propagation and ex vitro rooting of blueberry plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 18(2), 187-195 (2008).
26. Thomas G. W. Soil pH and soil acidity. *Methods of soil analysis: part 3 chemical methods*, 5, 475-490 (1996).
27. Alewell C., Matzner E. Reversibility of soil solution acidity and of sulfate retention in acid forest soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 71 (1), 155-165 (1993).
28. Deng F., Ma F., Shu H. Growth and physiological responses of five *Malus* species to the pH of hydroponic solutions. *African Journal of Agricultural Research*, 7 (16), 2519-2526 (2012).
29. De Almeida M.R., Aumond M., Da Costa C.T., Schwambach J., Ruedell C.M., Correa L.R., Fett-Neto A.G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees*, 31, 1377-1390 (2017).
30. Leyser O., Fitter A. Roots are branching out in patches. *Trends in plant science*, 3(6), 203-204 (1998).
31. Dampney P., Wale S., Sinclair A. Review Potash Requirements of Potatoes. Report of Agriculture & Horticulture Development Board, Kenilworth, England, 8-26 (2011).
32. Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., Nelson W.L. Soil acidity and alkalinity. Soil fertility and fertilizers. Pearson Prentice Hall. New Jersey, 7, 45-96 (2005).
33. Abd El-Latif K.M., Osman E.A.M., Abdullah R., Abdel Kader N. Response of Potato Plants to Potassium Fertilizer Rates and Soil Moisture Deficit. *Advances in Applied Science Research*, 2, 388-397 (2011).
34. Brady N.C., Weil R.R., Weil R.R. The nature and properties of soils. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 13, 662-710 (2008).
35. Trindade H., Pais M.S. In vitro studies on *Eucalyptus globulus* rooting ability. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 33(1), 1-5 (1997).
36. Andersen A.S. Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species. New root formation in plants and cuttings. Springer, Dordrecht, 223-253 (1986).

37. O'Neill M.A., Eberhard S., Albersheim P., Darvill A.G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science*, 294(5543), 846-849 (2001).
38. Haissig B.E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. New root formation in plants and cuttings. Springer, Dordrecht, 141-189 (1986).
39. Bellamine J., Penel C., Greppin H., Gaspar T. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation. *Plant growth regulation*, 6(3), 191-194 (1998).
40. Read P.E. Introduction to the symposium. *HortScience*, 22, 736-737 (1987).
41. Hartman H.T., Kester D.E. Plant propagation: principles and practices. (Prentice-Hall, 1975, 21 p.).
42. Hansen J. Stock plant lighting and adventitious root formation. *Hort Science*, 22(5), 746-749 (1986).
43. Shen H., He X., Liu Y., Chen Y., Tang J., Guo T. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. *Frontiers in microbiology*, 7, 841 (2016).
44. Taha R.A., Hassan H.S.A., Shaaban E.A. Effect of different potassium fertilizer forms on yield, fruit quality and leaf mineral content of Zebda mango trees. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 21(1), 123-129 (2014).
45. Pervez M.A., Ayyub C.M., Shabeen M.R., Noor M.A. Determination of Physiomorphological Characteristics of Potato Crop Regulated by Potassium Management. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 50, 611-615 (2013).
46. Linkohr B.I. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis, *The Plant Journal*, 29(6), 751-760 (2002).
47. Harris S.A., Robinson J.P., Juniper B.E. Genetic clues to the origin of the apple. *Trends in Genetics*, 18(8), 426-430 (2002).
48. Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Utilisation of identified simple sequence repeats (SSRs) in *Malus domestica* (apple) for germplasm characterization. *HortScience*, 31, 619 (1996).
49. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. Core subset collection. *Theoretical and applied genetics*, 97 (5-6), 671-683 (1998).
50. Moriya S., Iwanami H., Okada K., Yamamoto T., Abe K. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 177(1), 135-150 (2011).
51. Goulão L., Oliveira, C.M. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, 122(1), 81-89 (2001).

Сведения об авторах:

Нұртаза А.С. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Есимсеитова А.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Каримова В.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Магзумова Г.К. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Бақтыбай Б.Н. – младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Кабиева С.Ж. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Какимжанова А.А. – д.б.н., доцент, зав. лабораторией биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Nurtaza A.S. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Yessimseitova A.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Karimova V.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Magzumova G.K. – Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Baktybai B.N. – Junior Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kabieva S.ZH. – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kakimzhanova A.A. – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

N.S. Mamytova¹, L.Kh. Akbayeva², N.K. Kobetayeva^{2*},
Y.A. Tulegenov³, Y.J. Makazhanov⁴

¹Kazakh University Technology and Business, Nur-Sultan, Kazakhstan

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

³Kazakh National Women's Teacher Training University, Almaty, Kazakhstan

⁴Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

*Corresponding author: kobetaeva.nazira@mail.ru

Study of the self-cleaning ability of a reservoir and watercourses by hydrochemical indicators of Akmola region for 2018

Abstract. The article discusses the self-cleaning ability of lakes, rivers, and reservoirs of the Akmola region in terms of oxygen, as well as the influence of certain hydrochemical indicators such as (sulfates, chlorides, magnesium, salt ammonium, nitrite nitrogen, fluorides, total iron, zinc, manganese, copper, phenol). Among the chemical factors that inhibit the self-cleaning ability of reservoirs, one can note an increased content of salt sulfates, chlorides, calcium, magnesium, zinc, and copper phenol. ammonium, nitrite nitrogen, total iron, and copper. An assessment of the self-cleaning capacity of water bodies in the Akmola region was given based on oxygen indicators: the amount of dissolved oxygen in the water and the biological oxygen demand (BOD5). Rivers and lakes, based on the results obtained, were divided into six classes of self-cleaning ability, and a graph was also built from which among the studied water bodies, according to general annual indicators, lakes with low self-cleaning ability prevail. It has been established that the self-purification potential of waters can be influenced by both the excess of the content of individual hydrochemical components and the amount of the exceeded components, which can have a synergistic effect. Along with this, we studied which of the accompanying hydrochemical components affect the purification potential of water in lakes and rivers.

Keywords: reservoirs, watercourses, the self-cleaning ability of surface waters, biological capacity of oxygen, solubility of oxygen.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-86-96

Introduction

Justification of the necessity and relevance of the study: In the introduction, the authors focused only on the area of their research, I would suggest for the next article briefly highlight the problem in other regions, to present the global significance and applicability of the study.

Among the challenges of our time, the issue of the loss of the quality of surface water resources is becoming more acute [1,2]. Pollution of rivers and lakes is a hot topic in many countries of the world. Of course, measures should be taken to prevent pollutants from entering surface waters, but do not lose sight of the fact of natural self-purification in them. The ability to self-purify in lakes and rivers is a multifactorial process that allows you to maintain chemical homeostasis in water and ensure the vital activity of all hydrobionts. However, the problem of reducing and even losing this ability of reservoirs due to the ingress of persistent toxicants or a combination of different pollutants that can act with different activities under different hydrological regimes is increasingly being raised [3,4]. Knowledge of the conditions of self-purification, and their peculiarities in different types of rivers and lakes can help preserve the quality of water resources, the health of the entire aquatic ecosystem.

Natural waters differ from aqueous solutions of mineral and organic substances by the presence of complex communities of living organisms and a constant concentration of chemically active particles and compounds. With the participation of these organisms and particles, the synthesis and destruction of organic substances, the transformation of their forms, and, to a large extent, the migration of chemical elements are carried out.

The purpose of this work was: to carry out a comparative analysis of the self-cleaning ability of reservoirs and watercourses of the Akmola region in terms of oxygen indicators, as well as the influence of individual hydrochemical components [5,6,7,8,9].

In the Akmola region, the average results of hydrochemical studies for 2018 were taken in the following streams and reservoirs: river - Esil, Nura, Akbulak, Sarybulak, Zhabai, Bettybulak, Kypshakty, Shagalaly, lake - Sultangeldy, Zerendy, Kopa, Shabakty, Ulken, Kishi Shabakty, Sulukol, Karasye, Maybalyk, Tekekol, Katarkol, Lebyazhye. In total, 8 rivers, 13 lakes, one Nura-Esil canal, and the Vyacheslavskoe reservoir were considered.

Materials and research methods

We have studied such indicators as the amount of dissolved oxygen R and BOD₅ in the studied lakes and rivers. And calculated the ratio of these indicators as the ratio of photosynthetic activity in the reservoir to its destructive ability: R/BOD₅. The higher this ratio, the higher the potential for self-cleaning capacity in water bodies, and vice versa - the lower the ratio, the lower the self-cleaning capacity of the water body.

The content of the following components was studied in lakes and rivers: pH, sulfates, chlorides, calcium, magnesium, saline ammonium, nitrite nitrogen, fluorides, total iron, zinc, manganese, copper, phenol. Taking into account the concentration of substances in water (C_i) and their maximum permissible content (MPC_i), several components (n) were used to calculate the hydrochemical index of water pollution (WPI) (table 3) [10,11,12].

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

According to the results of the analyses of BOD₅ and the content of dissolved oxygen R, the R/BOD₅ ratios were calculated (Table 1). The minimum value of 1,2 of the R/BOD₅ ratio was in Lake Maybalyk, the maximum value of 20,2 in the Bettybulak river (figure 1).

Table 1

Average annual oxygen indicators of surface waters of Akmola region for 2018

Name of reservoirs	BOD ₅ mg / dm ³	The amount of dissolved oxygen R, mg / dm ³	R / BOD ₅
reservoirs			
sil river	1,86±0,02	10,05±2,07	5,4
Akbulak river	3,21±0,008	8,18±1,25	2,5
Sarybulak river	3,34±0,08	7,69±2,14	2,3
Bettybulak river	0,51±0,05	10,30±3,04	20,2
Zhabay river	2,11±0,04	8,90±0,17	4,2
Kylshikty river	2,82±0,017	6,82±0,85	2,4
Chagalla river	1,69±0,03	8,87±1,54	5,2
Nura river	2,81±0,021	8,45±2,07	3
Nura-Esil Canal	2,32±0,07	7,20±1,22	3,1

reservoirs			
Sultankeldy lake	1,96±0,07	8,64±1,22	4,4
Reservoir-Vyacheslavskoe	1,30±0,36	11,60±3,21	8,9
Lake Kopa	1,68±0,09	9,64±2,11	5,7
Lake Zerenda	1,25±0,04	10,90±3,44	8,72
Burabay lake	1,22±0,07	8,59±2,37	7
Lake Ulken Shabakty	1,07±0,022	9,04±2,03	8,4
Lake Shchuchye	0,93±0,17	8,99±1,07	9,6
Lake Kishi Shabakty	1,25±0,034	9,02±1,11	7,2
lake Karasie	0,89±0,02	8,41±0,25	9,4
Sulukol lake	2,00±0,001	6,84±0,78	3,4
Lake Katarkol	2,98±0,01	7,88±0,54	2,6
Lake Tekekol	1,31±0,02	8,70±0,71	6,6
Lake Maybalyk	3,57±0,87	4,29±0,01	1,2
Lake Lebyazhye	1,44±0,021	7,25±1,13	5,0

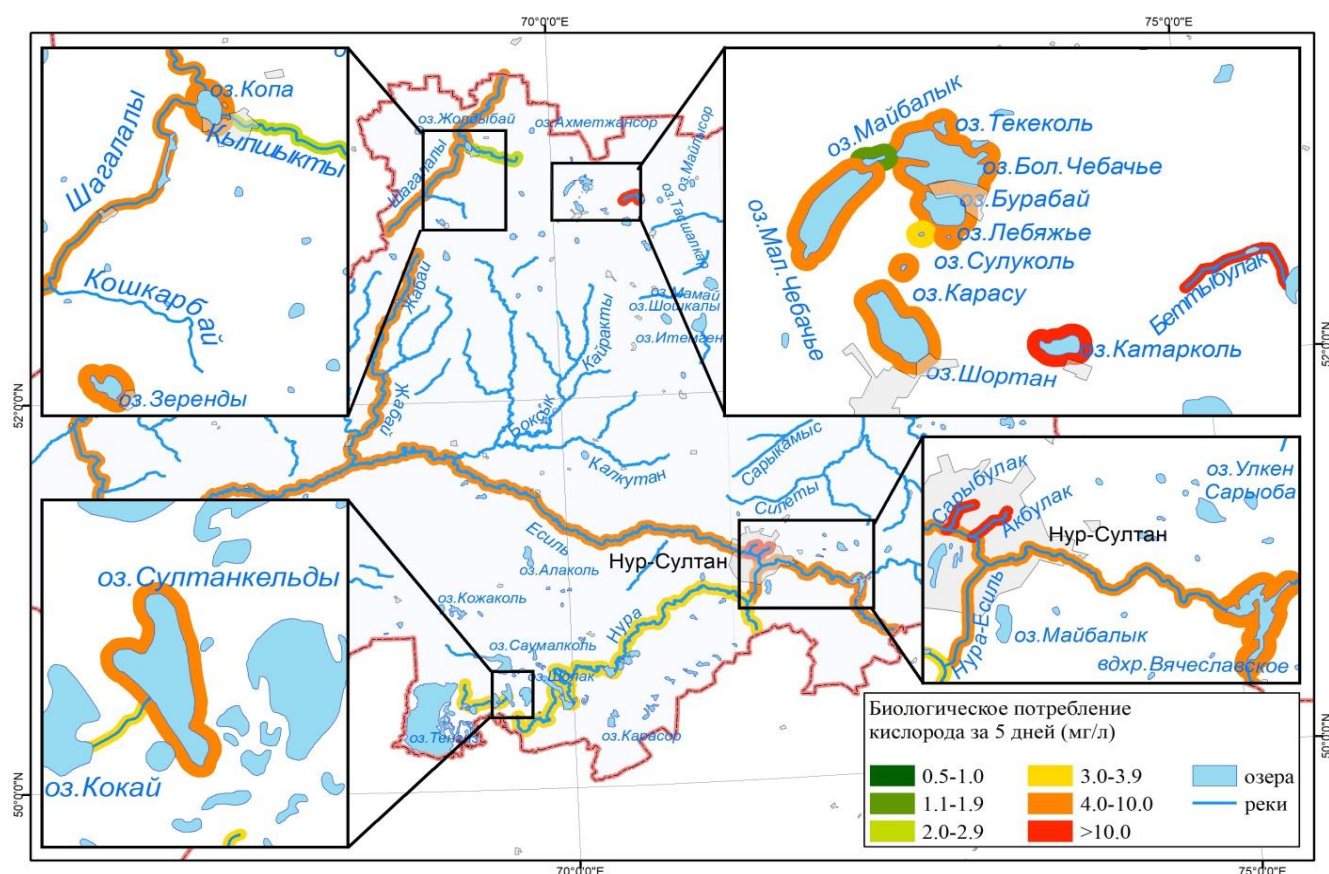


Figure 1. The mean annual oxygen indicators of surface waters on the map of the Akmola region

For the convenience of approximation, a variation series was compiled, divided into 6 classes, the size of the various class of streams is 3,1 (table 2) [13].

Table 2

Classes of watercourses by the self-cleaning ability

Class	R / BOD ₅	f	Self-cleaning ability
I	1,2-4,3	9	very weak
II	4,4-7,5	7	weak
III	7,6-10,7	6	average
IV	10,8-13,9	-	average
V	17-17,1	-	good
VI	17,2-20,3	1	high

Results and discussions

As a result, the following graph was obtained (figure 2), from which it can be seen that among the studied rivers and lakes, according to annual indicators, rivers with a low self-cleaning ability prevail: Class I (R/BOD₅ ratio 1,2-4,3), which is 39% of all bodies of water and watercourses. This class of watercourses includes Nura, Akbulak, Sarybulak, Zhabay, Kylshakty, Nura-Esil Canal, and reservoirs - Sulukol, Katarkol, Maybalyk.

To class II (R/BOD₅ 4,4-7,5), the self-cleaning ability of the studied water bodies and watercourses was 30%. Rivers Esil and Shagalaly, lakes - Sultankeldy, Kopa, Burabay Kishi Shabakty, Tekekol.

III class 26% (R/BOD₅ 7,6-10,7) is attributed to the Vyacheslavskoye Reservoir, reservoirs - Zerendy, Ulken Shabakty, Shchuchye, Karase.

IV classes (R/BOD₅ 10,8-13,9) and V (R/BOD₅ 17 – 17,1) in terms of the self-cleaning ability of water bodies and watercourses was - 0%.

in terms of self-cleaning ability VI class (R/BOD₅ 17,2 – 20,3), the Bettybulak river accounted for 4,3% of all streams and reservoirs.

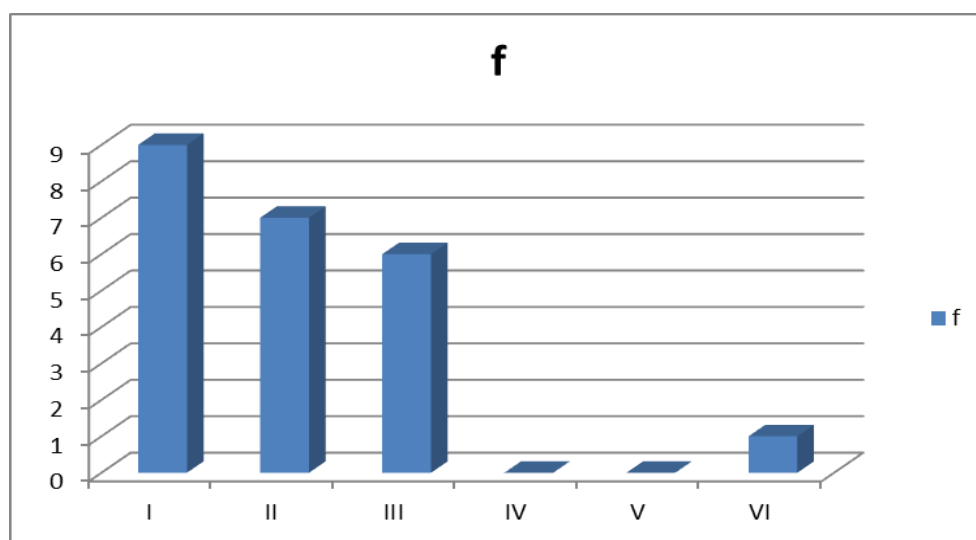


Figure 2. Numerical ratio of watercourses and reservoirs of Akmola region by class of ratio R/BOD₅

Hydrochemical components in the surface waters of the Akmola region for 2018 for the most priority pollutants are presented in (table 3).

Table 3

Hydrochemical components in surface waters of Akmola region for 2018

Name of reservoirs	pH	Class of reservoirs	The frequency rate of excess of MPC											
			Sulfates	Chlorides	Calcium	Magnesium	Ammonium Salt	Nitrite	Fluorides	Total iron	Zinc	Manganese	Copper	Phenol
MPC (mg / l)	-	-	100	300	-	-	0,5	0,02	0,75	0,1	0,01	0,01	0,001	0,001
Akbulak river	7,62	I	4,7±0,02	2,2±0,44	1,6±0,15	1,8±0,8	7,2±0,52	1,9±0,01	5,1±2,7	-	1,4±0,21	-	1,6±0,15	-
Sarybulak river	7,71	I	6,1±1,01	1,7±0,65	-	2,1±0,6	5,7±0,41	2,3±1,5	1,3±1,32	-	2,5±0,12	-	1,7±0,16	-
Zhabay river	8,08	I	1,5±0,18	-	-	-	1,5±0,74	2,3±0,4	-	3,4±0,32	-	14,1±8,07	-	-
Kylshikty river	7,83	I	-	-	-	-	2,8±0,32	-	1,9±0,78	5,3±2,1	-	209,5±48,21	-	-
Nura river	8,03	I	2,4±0,07	-	-	-	-	-	-	-	1,3±0,36	-	2,9±0,22	-
Nura Canal Esil	8,03	I	4,5±1,24	-	-	1,5±0,87	2,5±0,84	1,5±0,74	-	-	-	-	2,3±0,4	-
Sulukol lake	7,27	I	-	-	-	-	2,3±0,89	-	4,6±1,44	7,3±0,87	-	-	-	1,1±0,98
Lake Katarkol	9,04	I	1,3±0,24	-	-	1,8±0,15	-	-	11,0±0,5	-	-	-	-	-
Lake Maybalyk	8,72	I	45,2±6,12	43,1±5,16	-	40,5±3,7	2,8±0,21	2,2±0,95	6,7±2,2	1,5±0,14	-	-	1,7±0,16	1,1±0,77
Esil river	8,14	II	1,3±0,01	-	-	-	-	-	-	-	1,3±0,07	1,5±0,07	2,4±0,4	-
Chagalla river	7,95	II	-	-	-	-	-	-	-	1,5±0,02	-	63,4±11,78	-	-
Sultankeldy lake	8,33	II	1,5±0,04	1,2±0,20	-	1,5±0,14	-	-	-	-	-	-	1,4±0,21	-
Lake Kopa	8,25	II	1,6±0,96	-	-	-	-	-	-	-	-	5,9±2,27	-	-
Burabay lake	8,00	II	-	-	-	-	-	-	4,1±1,5	-	-	3,6±0,25	-	-
Lake Kishi Shabakty	8,76	II	12,4±1,22	6,1±2,04	-	10,0±1,12	1,6±0,44	-	16,1±1,8	-	-	5,0±1,65	1,2±1,2	-
Lake Tekekol	8,96	II	1,4±0,11	-	-	2,1±0,06	-	-	12,1±0,9	-	-	-	-	-
Reservoir- Vyacheslavskoe	8,16	III	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1±0,87	-	2,3±0,4	-
Lake Zerenda	8,45	III	1,2±0,48	-	-	1,5±0,32	-	-	3,5±1,7	-	-	3,2±1,32	-	-
Lake Ulken Shabakty	8,76	III	2,8±0,27	-	-	2,2±0,87	-	-	1,75±2,4	-	-	1,6±0,48	-	-
Lake Shchuchye	8,30	III	-	-	-	-	-	-	8,0±2,97	-	-	2,0±0,24	-	-
lake Karasie	7,77	III	-	-	-	-	9,1±5,1	-	3,1±1,98	1,1±2,3	-	-	-	-
Lake Lebyazhye	7,17	III	-	-	-	-	-	1,4±0,41	4,7±0,7	3,9±1,4	-	-	-	1,2±0,24
Bettybulak river	7,54	VI	-	-	-	-	-	-	1,2±0,87	1,6±0,85	-	2,7±1,54	-	-

Excessive MPCs were recorded for substances from the groups sulfates, chlorides, calcium, magnesium, salt ammonium, nitrite nitrogen, fluorides, total iron, zinc, manganese, copper, and phenol.

In the Esil River, excess MPCs were recorded for substances sulfates – 1,3 MPC, heavy metals zinc (2+) – 1,3 MPC, manganese (2+) – 1,5 MPC, copper (2+) – 2,4 MPC.

In the Akbulak River, MPCs were exceeded for substances from the main ion groups: chlorides – 2,2 MPC, sulfates – 4,7 MPC, magnesium – 1,8 MPC, calcium – 1,6 MPC, nutrients: salt ammonium - 7, 2 MPC, fluorides – 5,1 MPC, nitrite nitrogen – 1,9 MPC, heavy metals: zinc (2+) – 1,4 MPC, copper (2+) – 1,6 MPC.

In the Sarybulak River, excess MPCs were recorded for substances from the main ion groups: sulfates – 6,1 MPC, chlorides – 1,7 MPC, magnesium – 2,1 MPC, nutrients: salt ammonium – 5,7 MPC, nitrite nitrogen - 2,3 MPC, fluorides – 1,3 MPC, heavy metals: zinc (2+) – 2,5 MPC, copper (2+) – 1,7 MPC.

In the Bettybulak River, MPCs were exceeded for substances from biogenic substances (fluorides – 1,2 MPC, total iron – 1,6 MPC), heavy metals (manganese (2+) – 2,7 MPC).

In the Zhabai River, the excess was found for substances sulfates – 1,5 MPC, nitrite nitrogen – 2,3 MPC, ammonium salt – 1,5 MPC, total iron – 3,4 MPC, manganese (2+) – 14,1 MPC.

In the Kylshakty river, the excess of MPC was revealed for substances from the groups of biogenic substances: salt ammonium - 2.8 MPC, total iron - 5.3 MPC, fluorides - 1.9 MPC, heavy metals - manganese (2+) - 209.5 MPC.

In the Shagalaly River, excess MPCs were detected for substances from the groups of biogenic substances (total iron – 1,5 MPC), and heavy metals (manganese (2+) – 63,4 MPC).

In the Nura River, excess MPCs were recorded from sulfate ions – 2,4 MPC, heavy metals: copper (2+) – 2,9 MPC, zinc (2+) - 1,3 MPC.

In the Nura - Esil channel, the excess of MPC was recorded for ions: (sulfates - 2,5 MPC, magnesium – 1,5 MPC), from biogenic substances (salt ammonium - 2,5, nitrite nitrogen - 1,6 MPC) and heavy metals (copper (2+) - 2,3 MPC).

In Lake Sultankeldy, excess MPCs were recorded for substances from the main ion groups: sulfates – 3,2 MPC, magnesium – 1,5 MPC, chlorides – 1,2 MPC, heavy metals - (copper (2+) – 1,4 MPC).

In the Vyacheslavskoye reservoir - excess of MPC was recorded for heavy metals (copper (2+) - 2,3 MPC, zinc (2+) - 1,1 MPC).

In Lake Kopa, the water temperature exceeding the MPC was recorded for substances from the groups of the main ions (sulfates – 1,6 MPC), heavy metals (manganese (2+) – 5,9 MPC).

In Lake Zerendy, the excess was detected for substances from the groups of main ions (sulfates – 1,2 MPC, magnesium – 1,5 MPC), biogenic substances (fluorides – 3,5 MPC), heavy metals (manganese (2+) – 3, 2 MPC).

In Lake Burabay, MPCs were exceeded for substances from the groups of biogenic substances (fluorides – 4,1 MPC), and heavy metals (manganese (2+) – 3,6 MPC).

In Lake Ulken Shabakty, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of main ions (sulfates – 2,8 MPC, magnesium – 2,2 MPC), biogenic substances (fluorides - 17,5 MPC), heavy metals (manganese (2+) – 1,6 MPC).

In Lake Shchuchye, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of biogenic substances (fluorides – 8,0 MPC), and heavy metals (manganese (2+) – 2,0 MPC).

In Lake Kishi Shabakty, excess MPCs were recorded for substances from the main ion groups (chlorides – 6,1 MPC, sulfates – 12,4 MPC, magnesium – 10,0 MPC), biogenic substances (fluorides – 16,1 MPC, ammonium salt – 1,6 MPC), heavy metals (manganese (2+) – 5,0 MPC, copper (2+) – 1,2 MPC).

In Lake Karasye, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of biogenic substances (salt ammonium – 9,1 MPC, total iron – 1,1 MPC, fluorides – 3,1 MPC).

In Lake Sulukol, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of biogenic substances (fluorides – 4,6 MPC, ammonium salt – 2,3 MPC, total iron – 7,3 MPC), organic substances (phenols – 1,1 MPC).

In Lake Katarkol - excess of MPC was recorded for substances from the groups of main ions (magnesium – 1,8 MPC, sulfates – 1,3 MPC), biogenic substances (fluorides – 11,0 MPC).

In Lake Tekekol, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of main ions (magnesium - 2.1 MPC, sulfates - 1.4 MPC), and biogenic substances (fluorides - 12.1 MPC).

In Lake Maibalyk, the excess of MPC was recorded for substances from the groups of main ions (magnesium – 40,5 MPC, sulfates – 45,2 MPC, chlorides – 43,1 MPC), biogenic substances (total iron – 1,5 MPC, ammonium salt -2,8 MPC, fluorides - 6.7 MPC, nitrite nitrogen – 2,2 MPC), heavy metals (copper (2+) – 1,7 MPC), organic substances (phenols – 1,1 MPC).

In Lake Lebyazhye, MPCs were exceeded for substances from the groups of biogenic substances (total iron – 3,9 MPC, fluorides – 4,7 MPC, nitrite nitrogen – 1,4 MPC), organic substances (phenols - 1.2 MPC).

Conclusion

Thus, summing up the results of this section of research for 2018 on watercourses and reservoirs of the Akmola region, it should be noted that:

- in surface waters, exceeding the maximum permissible concentration for substances from the groups sulfates, chlorides, calcium, magnesium, saline ammonium, nitrite nitrogen, fluorides, total iron, zinc, manganese, copper, phenol was recorded;

- among the studied rivers, according to annual indicators, rivers with a low self-cleaning ability prevail: from class I (ratio R/BOD₅ 1,2-4,3), which is 30% of all watercourses. This class of watercourses includes the rivers Nura, Akbulak, Sarybulak, Zhabay, Kylshakty, the Nura-Esil Canal, and the reservoirs - Sulukol, Katarkol, Maybalyk;

- that the Bettybulak river prevails among the studied reservoirs in terms of annual indicators – 4,3% with a high self-cleaning ability - VI class.

References

1. Меринова Ю.Ю. Хаванский А.Д. О состоянии водных ресурсов в Ростовской агломерации. - 2014. - № 3 (181). - С. 96-101.
2. Донец М.М., Цыганков В.Ю., Боярова М.Д., Гумовский А.Н., Гумовская Ю.В.П., Христофорова Н.К. Хлорорганические соединения камбал рода *Hippoglossoides* Gottsche, 1835 из дальневосточных морей России. Морской биологический журнал. - 2020. - № 1. - С. 29-42.
3. Аршаница Н.М., Ляшенко О.А. Волховская губа Ладожского озера как источник загрязнения р. Невы. - 2016. - № 1. - С. 35-41.
4. Потемкина Т.Г., Потемкин В.Л., Федотов А.П. Климатические факторы как риски современных экологических изменений в береговой зоне озера Байкал. - 2018. - № 5. - С. 690-702.
5. Остроумов С.А. Биологический механизм самоочищения в природных водоемах и водотоках: теория и приложения. - 2004. - № 5. - 429-442 с.
6. Остроумов С.А. Роль биоты в экологических механизмах самоочищения воды. - Москва: Изд-во МАКС-Пресс, 2016. - 124 с.
7. Федоров В.Д. Практическая гидробиология. Пресноводные экосистемы: Учеб. для студ. биол. спец. Университетов. - Москва: ПИМ, 2006. - 367 с.
8. Щеголькова Н.М. Динамика экологического состояния основного водотока мегаполиса: на примере реки Москвы: дис. ... док. биол. наук: 03.00.16. - Москва, 2007. - 325 с.

9. Пивнева О.С. Использование математической модели для прогнозирования пороговых концентраций влияния пестицидов на санитарное состояние водоёмов // Гигиена и санитария. - 2018. - Т. 97, №6. - С. 520-524.
10. РД 52.24.419-2005. Массовая концентрация растворенного кислорода в водах. Методика выполнения измерений иодометрическим методом. - Введ. 2005-07-01. - Москва, 2005. - 14 с.
11. СТ РК ISO 10523-2013. Качество воды. Определение pH. - Введ. 2014-07-01. - Астана, 2014. - С. 16
12. Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан за 2018 год. [Электронный ресурс]. - URL: <https://kazhydromet.kz/ru/p/ekologia> (дата обращения: 11.05.2018).
13. Акбаева Л. Изучение способности к самоочищению водоемов и водоемов Аршалынского района Акмолинской области // Экологический менеджмент и туризм. - 2020. - Т. 11. - №. 5. - С. 1095-1104.

Н.С. Мамытова¹, Л.Х. Акбаева², Н.К. Кобетаева², Е.А. Тулегенов³, Е.Ж. Макажанов⁴

¹Қазақ технология және бизнес университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

²Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

³Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

⁴М.Ақмулла атындағы Башқұрт мемлекеттік педагогикалық университеті, Уфа, Башқұртстан Республикасы, Ресей

Ақмола облысының 2018 жылғы гидрохимиялық көрсеткіштері бойынша су қоймасы мен су ағындарының өзін-өзі тазарту қабілетін зерттеу

Аңдатпа. Мақалада Ақмола облысының көлдерінің, өзендерінің және су қоймаларының оттегі көрсеткіштері бойынша Өзін-өзі тазарту қабілеті, сондай-ақ жекелеген гидрохимиялық көрсеткіштердің әсері (сульфаттар, хлоридтер, магний, тұзды аммоний, нитритті азот, фторидтер, жалпы темір, мырыш, марганец, мыс, фенол) қарастырылады. Су объектілерінің өзін-өзі тазарту қабілетін тежейтін химиялық факторлардың ішінде тұзды аммонийдің, нитрит азотының, жалпы Темірдің, Мыстың жоғарылауын атап өтуге болады. Ақмола облысы су айдындарының өзін-өзі тазарту қабілетіне оттегі көрсеткіштері негізінде баға берілді: судағы ерітілген оттегінің мөлшері және оттегінің биологиялық қажеттілігі (БПК₅). Алынған нәтижелер негізінде өзендер мен көлдер өзін-өзі тазарту қабілетінің алты класына бөлінді, сонымен қатар график жасалды, зерттелген су қоймаларының арасында жалпы жылдық көрсеткіштер бойынша Өзін-өзі тазарту қабілеті төмен көлдер басым екендігі көрінеді. Судың өзін-өзі тазарту потенциалына жекелеген гидрохимиялық Компоненттердің мөлшері де, синергетикалық әсер етуі мүмкін Компоненттердің мөлшері де әсер етуі мүмкін екендігі анықталды. Сонымен қатар, олар гидрохимиялық компоненттердің қайсысы көлдер мен өзендердегі судың тазарту әлеуетіне әсер ететінін зерттеді.

Түйін сөздер: су қоймалары, су қоймаларының өзін-өзі тазарту қабілеті, фотосинтез, оттегі, гидрохимия, ВРК₅.

Н.С. Мамытова¹, Л.Х. Акбаева², Н.К. Кобетаева², Е.А. Тулегенов³, Е.Ж. Макажанов⁴

¹Казахский университет технологий и бизнеса, Нур-Султан, Казахстан

²Евразийский национальный университет Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

³Казахский национальный женский педагогический университет, Алматы, Казахстан

⁴Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Изучение самоочищающей способности водоемов и водотоков по гидрохимическим показателям Акмолинской области за 2018 год

Аннотация. В статье рассматривается самоочищающая способность озер, рек и водохранилищ Акмолинской области по показателям кислорода, а также влияние отдельных гидрохимических показателей, таких как сульфаты, хлориды, магний, аммоний солевой, азот нитритный, фториды, железо общее, цинк, марганец, медь, фенол. Среди химических факторов, угнетающих самоочистительную способность водоемов, можно отметить повышенное содержание сульфатов, хлоридов, кальция, магния, аммония солевого, азота нитритного, фторидов, железа общего, цинка, марганца, меди, фенола.

Была дана оценка самоочищающей способности водоемов Акмолинской области на основании кислородных показателей: количество растворенного кислорода в воде и биологическая потребность кислорода (БПК₅). Реки и озера на основании полученных результатов были распределены по шести классам самоочищающей способности, а также построен график, из которого видно, что среди изученных водоемов по общегодовым показателям преобладают озера с низкой самоочищающей способностью. Установлено, что на самоочистительный потенциал вод могут влиять как превышение содержание отдельных гидрохимических компонентов, так и количество превышаемых компонентов, которые могут дать синергетический эффект. Наряду с этим изучали, какие из сопутствующих гидрохимических компонентов оказывают влияние на очистительный потенциал воды в озерах и реках.

Ключевые слова: водоемы, водотоки, самоочищающая способность поверхностных вод, биологическая потребность кислорода, растворимость кислорода.

References

1. Merinova YU.YU. Havanskij A.D. O sostoyanii vodnyh resursov v Rostovskoj aglomeracii [On the state of water resources in the Rostov agglomeration], 3 (181), 96-101 (2014). [in Russian]
2. Donec M.M., Cygankov V.YU., Boyarova M.D., Gumovskij A.N., Gumovskaya YU.V.P., Hristoforova N.K. Hlororganicheskie soedineniya kambal roda Hippoglossoides Gottsche, 1835 iz dal'nevostochnyh morej Rossii. Morskoj biologicheskij zhurnal [Organochlorine compounds of flounders of the genus Hippoglossoides Gottsche, 1835 from the Far Eastern seas of Russia. Marine Biological Journal], 1, 29-42 (2020). [in Russian]
3. Arshanica N.M., Lyashenko O.A. Volhovskaya guba Ladozhskogo ozera kak istochnik zagryazneniya r. Nevy [Volkhovskaya Bay of Lake Ladoga as a source of pollution of the Neva River], 1, 35-41 (2016). [in Russian]
4. Potemkina T.G., Potemkin V.L., Fedotov A.P. Klimaticheskie faktory kak riski sovremennyh ekologicheskikh izmenenij v beregovoj zone ozera Bajkal [Climatic factors as risks of modern ecological changes in the coastal zone of Lake Baikal], 5, 690-702 (2018). [in Russian]
5. Ostroumov S.A. Biologicheskij mekhanizm samoochishcheniya v prirodnyh vodoemah i vodotokah: teoriya i prilozheniya [The biological mechanism of self-purification in natural reservoirs and watercourses: theory and applications], 5, 429-442 (2004). [in Russian]

6. Ostroumov S.A. Rol' bioty v ekologicheskikh mekhanizmah samoochishcheniya vody [The role of biota in the ecological mechanisms of water self-purification]. (Moskva, Izd-vo MAKS-Press, 2016. 124 s.). [in Russian]
7. Fedorov V.D. Prakticheskaya gidrobiologiya. Presnovodnye ekosistemy: Ucheb. dlya stud. biol. spec. Universitetov [Practical hydrobiology. Freshwater ecosystems: Textbook. for stud. biol. specialist. Universities]. (Moskva, PIM, 2006. 367 s.). [in Russian]
8. SHCHegol'kova N.M. Dinamika ekologicheskogo sostoyaniya osnovnogo vodotoka megapolisa: na primere reki Moskvy [Dynamics of the ecological state of the main watercourse of the metropolis: on the example of the Moscow River]: dis. ... dok. biol. nauk: 03.00.16. - Moskva, 2007. - 325 s. [in Russian]
9. Pivneva O.S. Ispol'zovanie matematicheskoy modeli dlya prognozirovaniya porogovykh koncentracij vliyaniya pesticidov na sanitarnoe sostoyanie vodoyomov, Gigiena i sanitariya [Using a mathematical model to predict threshold concentrations of the influence of pesticides on the sanitary condition of reservoirs, Hygiene and sanitation], 97(6), 520-524 (2018). [in Russian]
10. RD 52.24.419-2005. Massovaya koncentraciya rastvorennogo kisloroda v vodah. Metodika vypolneniya izmerenij iodometricheskim metodom [Mass concentration of dissolved oxygen in water. Method for performing measurements by the iodometric method], - Vved. 2005-07-01. Moskva, 2005. 14 s. [in Russian]
11. ST RK ISO 10523-2013. Kachestvo vody. Opredelenie pH [Water quality. Determination of pH]. Vved. 2014-07-01. Astana, 2014. 16 s. [in Russian]
12. Informacionnyy byulleten' o sostoyanii okruzhayushchej sredy Respubliki Kazahstan za 2018 god [Information bulletin on the state of the environment of the Republic of Kazakhstan for 2018]. [Electronic resource]. Available at: <https://kazhydromet.kz/ru/p/ekologia> (Accessed: 11.05.2018). [in Russian]
13. Akbayeva L. Izuchenie sposobnosti k samoochishcheniyu vodoemov i vodoemov Arshalynskogo rajona Akmolinskoj oblasti, Ekologicheskij menedzhment i turizm [Studying the ability to self-purify reservoirs and reservoirs of the Arshalyn district of the Akmola region, Environmental management and tourism]. 11(5). 1095-1104 (2020). [in Russian]

Information about the authors:

Mamytova N.S. – Ph.D., Senior Lecturer of the Department of Chemistry, Chemical Technology and Ecology of the Kazakh University of Technology and Business, 37 A Kayym Mukhamedkhanov str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Akbayeva L.Kh. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department "Management and Engineering in the Field of Environmental Protection" of L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhimukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kobetayeva N.K. – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department "Management and Engineering in the Field of Environmental Protection" of L.N. Gumilyov Eurasian National University, 13 Kazhimukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Tulegenov Y.A. – Ph.D., Senior Lecturer of the Department of Geography, Kazakh National Women's Pedagogical University, 99 Aiteke bi str., Almaty, Kazakhstan.

Makazhanov Y.J. – Researcher, Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla, 3A Oktyabrskaya Revolution str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

Мамытова Н.С. – PhD философия докторы, Қазақ технология және бизнес университеті Химия, химиялық технология және экология кафедрасының аға оқытушысы, Қайым Мұхамедханов көшесі, 37 А, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Ақбаева Л.Х. – биология ғылымдарының кандидаты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті «Қоршаған ортаны қорғау саласындағы басқару және инжиниринг» кафедрасының қауым.профессоры, Қажымұқан көшесі, 13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Кобетаева Н.К. – биология ғылымдарының кандидаты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті «Қоршаған ортаны қорғау саласындағы басқару және инжиниринг» кафедрасының қауым.профессоры, Қажымұқан көшесі, 13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Тулегенов Е.А. – PhD философия докторы, Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті география кафедрасының аға оқытушысы, Әйтеке би көшесі, 99, Алматы, Қазақстан.

Макажанов Е.Ж. – ізденуші, М. Ақмулла атындағы Башқұрт мемлекеттік педагогикалық университеті, Октябрь революциясы көшесі, 3 А, Уфа, Башқұртстан.

А.К. Аргумбаева, А.О. Рахимжанова, А.К. Каканай, Ш.А. Манабаева*

Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Нур-Султан, Казахстан

*Автор для корреспонденции: manabaeva@biocenter.kz

Особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений из соматических тканей люцерны сортов отечественной селекции в культуре *in vitro*

Аннотация. Изучены особенности морфогенеза и регенерации люцерны сортов отечественной селекции в культуре *in vitro*. В результате проведенных исследований отработан протокол стерилизации семян люцерны с использованием различных стерилизующих агентов, и отмечено получение 100% асептических жизнеспособных проростков для последующих культуральных работ. Для инициации каллусов в качестве эксплантов использовали семядоли и гипокотили, культивируя их на питательной среде Гамборга В5 с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и кинетина - 5,0 мг/л, нафтилуксусной кислоты (НУК) - 0,1 мг/л. Морфогенные каллусные ткани индуцированы на среде Гамборга В5 с 6-бензиламинопурином (БАП) - 0,2 мг/л. Эффективной средой для развития побегов отмечена безгормональная среда Гамборга В5, а также $\frac{1}{2}$ данной среды с добавлением кинетина 0,2 мг/л. Установлено, что отработанный протокол получения растений-регенерантов из каллусных культур люцерны является эффективным для использования биотехнологических методов по расширению генетической основы люцерны.

Ключевые слова: люцерна, культура каллусов, фитогормоны, растения-регенеранты.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-97-106

Введение

Люцерна (*Medicago*) – род двудольных однолетних и многолетних травянистых растений из семейства Бобовых (Fabaceae). Род люцерны широко распространён в Средиземноморском регионе, доходя до Испании и Канарских Островов на западе, Китая на востоке, Сибири на севере и Йемена на юге [1]. Насчитывает более 60 видов [1]. Важнейшими представителями данного рода являются люцерна посевная (*Medicago sativa*), люцерна желтая (*Medicago falcata*) и люцерна изменчивая (*Medicago varia*) [2].

В настоящее время некоторые классические методы классификации люцерны по морфологическим признакам, как оттенок цветка, форма стручка, пыльники, т. д. требуют корректировки. Развитие и доступность молекулярных методов могут служить действенным инструментом в этом направлении исследований [3].

Люцерна играет важную роль в фармакологии, имея в составе сапонины, понижающие уровень холестерина, что благоприятно влияет на сердечно-сосудистую и нервную систему [4], и в кормовой отрасли благодаря сравнительно высоким количествам зеленой массы на гектар и количеству перевариваемого протеина [5]. Кроме того, люцерна является медоносной культурой, а также особый интерес представляет способность растений удобрять и восстанавливать водный баланс почвы благодаря глубокой корневой системе и симбиозу с азотофиксирующими бактериями.

Первая успешная работа по получению регенерантов люцерны описана в работе Сандерса и Бингхэма в 1972 году с помощью способа соматического эмбриогенеза посредством использования среды Блэйдс с сочетанием гормонов кинетин, НУК, 2,4-Д [6]. Авторами было

установлено, что эмбриогенный потенциал люцерны не зависит от типов экспланта, процесс соматического эмбриогенеза может быть начат из любой части растения [6].

Исследования по регенерации люцерны являются актуальными и в настоящее время, востребованность люцерны в агропромышленном комплексе, медицине, в косметологической и пищевой промышленности и других отраслях с каждым годом возрастает благодаря не только издревле известным, но и новым выявляемым свойствам данного растения.

Известно, что способность к морфогенезу в условиях *in vitro* у различных органов одного и того же растения различна. Более того, установлено, что морфогенетический потенциал культивируемых тканей люцерны зависит не только от органа, от вида экспланта, но и его физиологического возраста, размера, анатомических и функциональных особенностей [7,8].

Строеквой и Дархановой удалось индуцировать каллусные клетки из листовых эксплантов у люцерны изменчивой при использовании аналогичной комбинации гормонов, что и у Сандерса, с дальнейшим получением эмбриогенных клеток с помощью высокой концентрации ауксинов по 8,0 мг/л 2,4-Д и кинетина и 5,0 мг/л – НУК на модифицированной среде Гамборга В5, исследования проведены только на одном сортообразце Сюлинская [9]. В результате комплексных исследований по морфогенезу люцерны в культуре *in vitro* выявлена зависимость морфогенетических реакций от генотипа [10,11,12].

В некоторых исследованиях изучается эффект различных гормонов на индукцию побегообразования люцерны. Гхотби с коллегами изучал эффект разных концентраций ауксина на укоренение побегов люцерны [13]. Подробный процесс соматического эмбриоидогенеза и получение регенерантов люцерны посевной, а также методы генетической трансформации, вопросы взаимодействия люцерны с полезными микроорганизмами описаны в статье Тича и др. [14]. Французскими учеными установлено, что дополнительная экспрессия гена WUSCHEL стимулирует каллусогенез и соматический эмбриогенез [15].

Методами генетической инженерии люцерны успешно трансформируется с помощью *Agrobacterium tumefaciens*, начиная с 1980-х годов, однако до сих пор не существует универсальной процедуры трансформации для различных сортов в пределах одного вида. Нерешенной проблемой, сдерживающей разработку и широкое использование технологий для улучшения люцерны, являются существенная зависимость процесса морфогенеза *in vitro* от исходного генотипа и отсутствие четко регулируемых систем регенерации растений в культуре клеток и тканей.

Задачей данного исследования является изучение морфогенетического и регенерационного потенциала сортов люцерны местной селекции с целью отбора отзывчивых генотипов для последующей *Agrobacterium*-опосредованной трансформации. Данный этап работы является необходимым для успешной реализации проекта, направленного на создание генетически улучшенных растений люцерны.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали семена 3 сортов люцерны изменчивой (M.varia): Шортандинская 2, Райхан и Лазурная. Все сорта люцерны были выведены методами селекции в НПЦЗХ им. А.Бараева. Сорта отличаются особой устойчивостью к болезням, засухо- и зимоустойчивы, обладают высокой урожайностью по приросту зеленой массы и семенами.

Для введения в культуру *in vitro* и изучения инициации каллусных культур в исследованиях использованы асептические растения. Стерилизацию семян проводили в 2 этапа: 1- семена помещали в раствор «Белизны», содержащего в составе активное вещество гипохлорит натрия (время экспозиции 30, 40 и 60 минут), с добавлением 1-2 капли твина-20, и помещивали на шейкере. Затем тщательно промывали 3–5 раз стерильной дистиллированной водой; 2 - семена

обрабатывали в растворе 70% этанола (время экспозиции 1 минута), затем промывали 3–5 раз стерильной водой.

Стерилизованные семена проращивали на безгормональной агаризованной питательной среде Гамборга В5. Из полученных асептических проростков получили экспланты семядолей и гипокотилей.

Для получения каллусной массы сегменты семядолей и гипокотилей 7-дневных асептических проростков культивировали в чашках Петри, содержащей 20-25 мл агаризованной питательной среды Гамборга В5 с различной комбинацией и концентрацией ростовых регуляторов (таблица 1). В качестве желирующего агента использовали фитогель в количестве 2 г/л.

Культивирование эксплантов проводили при температуре 25-27°C, при дополнительном освещении 2,5-3,0 тыс.лк. с 16-часовым фотопериодом и при 70% относительной влажности воздуха. Частоту каллусогенеза (%) оценивали по количеству эксплантов, индуцирующих каллус, от общего числа эксплантов.

Таблица 1

**Состав питательных сред для индукции
калусообразования и регенерации люцерны**

№	Фитогормоны (мг/л)	Каллусогенез						Регенерация		
		B5K I	B5K II	B5K III	B5V I	B5V II	B5V III	B5P I	B5P II	B5P III
1	2,4-Д	8,0	5,0	2,0	–	–	–	–	–	–
2	Кинетин	8,0	5,0	2,5	–	–	–	–	–	–
3	НУК	0,5	0,1	0,1	–	–	–	–	–	–
4	БАП	–	–	–	0,5	0,5	0,7	0,2	0,5	1,0
5	ГКЗ	–	–	–	10,0	5,0	2,0	–	–	–

Через 3-4 недели индуцированные морфогенные каллусы были перенесены на среду для регенерации, стимулирующую развитие зеленых хлорофиллсодержащих участков, в качестве регуляторов роста использовали БАП в концентрациях 0,2 мг/л, 0,5 мг/л и 1,0 мг/л соответственно. Через 30 дней культивирования, при формировании морфогенных зон, каллусные ткани пассировали на среду В5 для оптимизации побегообразования. Для дальнейшего развития побегов использовали среду 1/2 В5 с добавлением кинетина в концентрации 0,2 мг/л.

Результаты исследований

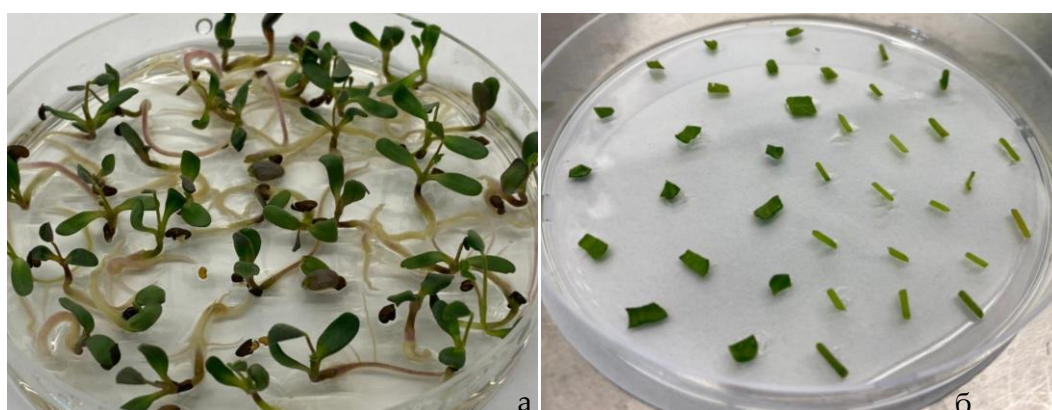
Первым и основным этапом исследований для получения изолированных клеток, тканей и органов растений является стерилизация растительного материала. Результаты проведенных исследований по обеззараживанию семян люцерны представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Выход асептического и жизнеспособного материала
при стерилизации люцерны изменчивой**

Время экспози- ции, мин.	Общее количество семян, шт.	Число семян, шт (%)					
		Асептически жизнеспособные		Асептически нежизнеспособ-ные		Инфицирован-ные	
30	60	44	73,3 ± 0,63	1	1,6 ± 2,60	15	25,0 ± 0,17
40	62	54	87,0 ± 0,75	3	4,8 ± 3,50	5	8,2 ± 4,30
60	65	46	70,7 ± 0,61	18	27,7 ± 0,15	1	1,6 ± 2,6

По итогам проведенных экспериментов оптимальным временем стерилизации семян люцерны является 40 минут. Обработка в течение 30 минут показала наиболее высокий процент инфицирования семян, а более продолжительная обработка в течение 60 минут приводила к снижению жизнеспособности. На рисунке 1 представлены асептические 7-дневные проростки семян люцерны и сегменты семядолей и гипокотилей на среде для каллусообразования.



**Рисунок 1. а - стерильные 7-дневные проростки семян люцерны; б - изолированные
экспланты на среде для каллусогенеза**

Каллусообразующая способность сортов люцерны показана на рис. 2.

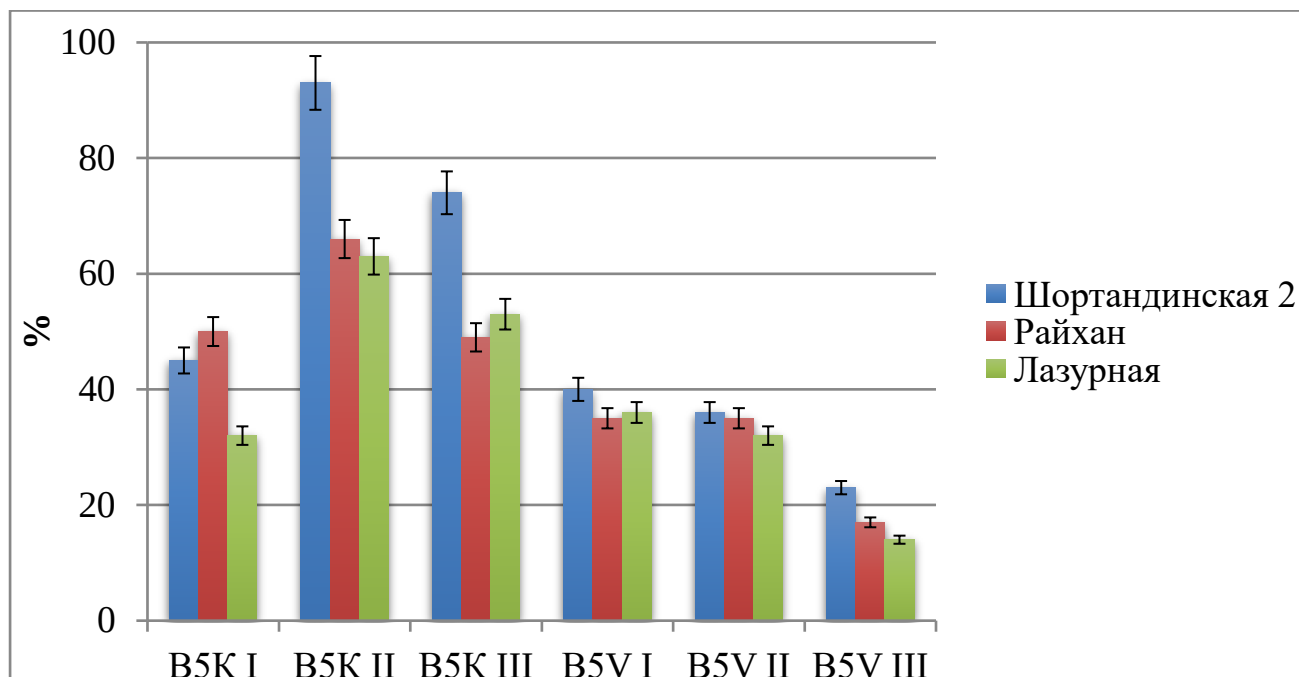


Рисунок 2. Интенсивность каллусогенеза сортов люцерны изменчивой

По итогам мониторинга, на 30 день культивирования высокий прирост каллусной ткани показал сорт Шортандинская 2 (93,0%) на варианте среды B5K II, содержащей в составе: 2,4-Д- 5,0 мг/л, кинетин-5,0 мг/л и НУК- 0,1 мг/л. Необходимо отметить, что все сорта, использованные в эксперименте, отличались хорошим пролиферативным потенциалом и на других модификациях средах. Например, сорт Райхан - 66,0%, Лазурная-63,0%. Оптимальным вариантом питательной среды для каллусогенеза, где выявлен активный рост ткани, является среда B5K II, которая также оказалась оптимальной для длительного культивирования каллусов. При увеличении или снижении концентрации фитогормонов отмечался низкий прирост каллусной массы.

На модификациях сред с добавлением БАП и ГКЗ отмечался частичный некроз эксплантов, а также минимальный процент формирования каллусной ткани. Для получения растений-регенерантов полученные рыхлые и обводненные каллусы пассировали на 3 варианта питательной среды B5P. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3

Частота морфогенеза и регенерации сортов люцерны изменчивой

Вариант питательной среды	Шортандинская 2		Райхан		Лазурная	
	Кол-во каллусов, шт.	Частота регенерации, %	Кол-во каллусов, шт.	Частота регенерации, %	Кол-во каллусов, шт.	Частота регенерации, %
B5P I	31	77,5 ± 0,65	26	65,3 ± 0,51	29	55,2 ± 0,41
B5P II	29	62,1 ± 0,49	24	58,3 ± 0,43	31	25,9 ± 0,18
B5P III	27	37,2 ± 0,28	29	24,2 ± 0,15	25	24,0 ± 0,15

На варианте среды с содержанием БАП в концентрации 0,2 мг/л у трех сортов люцерны отмечался высокий процент образования морфогенного каллуса с многочисленными меристемными зонами. При увеличении концентрации данного цитокинина до 1,0 мг/л отмечено негативное влияние и снижение процента регенерации, наименьший процент регенерации показали сорт Лазурная и Райхан. При культивировании на среде Гамборга В5 с витаминами Гамборга В5 в течение 14 дней наблюдался рост побегов с простыми листьями, однако при последующем культивировании на данной среде наблюдаются торможение роста и развития, а также некроз эксплантов. Для дальнейшего развития побеги переносили на ½ среды Гамборга В5, содержащей кинетин в концентрации 0,2 мг/л. На данной среде получены растения-регенеранты и регенерационная способность варьировала от 55,2% до 77,5%.

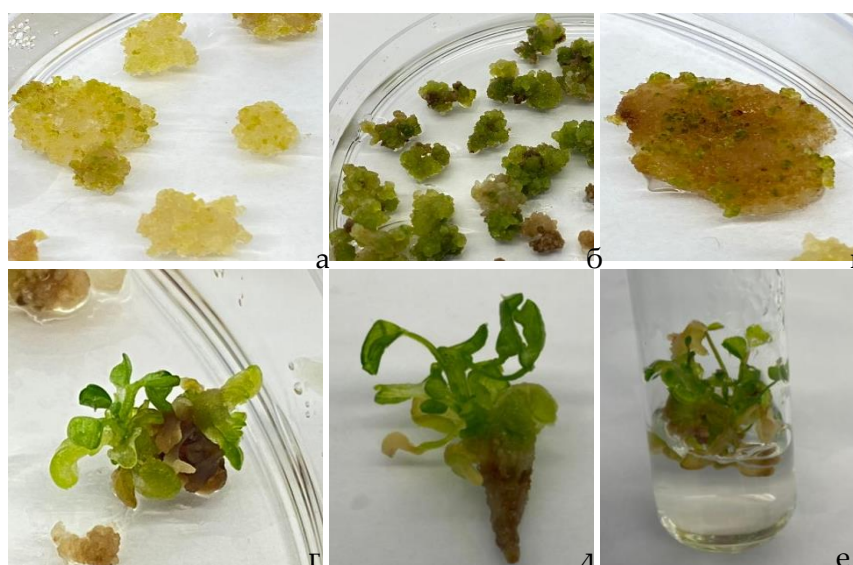


Рисунок 3. а - формирование каллусной ткани; б - темно-зеленый каллус с многочисленными меристемными зонами; в - морфогенные каллусы, сорт Шортандинская 2; г, д, е - регенеранты люцерны изменчивой, сорт Шортандинская 2

Выводы

Итак, изучены особенности каллусогенеза и морфогенеза отечественных сортов люцерны. Отмечена максимальная частота образования каллусной ткани у эксплантов сорта Шортандинская 2 (93,0%), при культивировании на варианте среды В5К II с 2,4-Д- 5,0 мг/л, кинетин-5,0 мг/л и НУК- 0,1 мг/л. По итогам проведенных исследований можно сделать вывод, что сорт Шортандинская 2 отличается от других сортов высоким потенциалом регенерационной способности.

Таким образом, отработанные протоколы по стерилизации семян, по индукции процесса каллусогенеза и определению морфогенной способности, а также выявлению эффективного способа регенерации побегов из семян сортов люцерны отечественной селекции можно использовать для успешных генетических исследований по расширению генетического базиса данного уникального растения.

Финансирование. Работа выполнена при грантовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан (номер гранта: AP09260362).

Список литературы

1. Quiros C.F., Bauchan G.R. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* comp. - Agronomy monographs, 2015.
2. Lesins K.A., Lesins I.L. Genus *Medicago* (Leguminosae): A Taxogenetic Study // - W. Junk. The Hague Netherlands, 1979.
3. Şakiroğlu D.İ. *Medicago sativa* species complex: Revisiting the century-old problem in the light of molecular tools // Crop Science. – 2020. – Vol. 61, № 5. – P. 827-838.
4. Bora K.S., Sharma A. Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: a review // Pharm Biol. – 2011. – Vol. 49, № 2. – P. 211-220.
5. Пикун П.Т. Люцерна и ее возможности. – Минск: Белорусская наука, 2012. – С. 314.
6. Saunders J.W., Bingham E.T. Production of Alfalfa Plants from Callus Tissue // Crop Science - 1972. – Vol. 12, № 6. – P. 804-808.
7. Строева Н.С., Дарханова В.Г. Получение растений-регенерантов *Medicago varia* индукцией каллусообразования листовых эксплантов в культуре *in vitro* // Наука и Образование. – 2017. – V. 1. – P. 110-113.
8. Gonzalez-Duran I.J.L. Morphological stage, chronological age, and accumulated temperatures as predictors of forage quality of field-grown alfalfa (*Medicago sativa* L.) / Cornell University, 1998.
9. Hindson S., McElroy A.R., Portelance C. Media and Genotype Effects on the Development and Conversion of Somatic Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) Embryos. // In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant, – 1998. – Vol. 34, № 3. – P. 181-84.
10. Wan Y., Sorensen E.L., Liang G.H. Genetic control of *in vitro* regeneration in alfalfa (*Medicago sativa* L.)// Euphytica. – 1998. – Vol. 39. – P. 3-9.
11. Sangra A., Shahin L., Dhir S. Long-Term Maintainable Somatic Embryogenesis System in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Using Leaf Explants: Embryogenic Sustainability Approach // Plants. – 2019. – Vol. 8. – P. 278-294.
12. Hawkins C., Yu L. Recent progress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) genomics and genomic selection // The Crop Journal. – 2018. – Vol. 6, №6. – P.565-575.
13. Ghotbi V., Dehghani H., Choucan R., Moeini A. Effects of different auxin solutions on rooting of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) cuttings// Iranian Journal of Filed Crop Science – 2017. – Vol. 48, № 2. – P. 535-543.

14. Ticha M., Illesova P., Hrbackova M., Basheer J., Novak D., Hlavakova K., Samajova O., Niehaus K., Ovecka M., Samaj J. Tissue culture, genetic transformation, interaction with beneficial microbes, and modern bio-imaging techniques in alfalfa research. Crit Rev Biotechnol. – 2020. – Vol. 40, № 8. – P. 1265-1280.

15. Kadri A., Grenier D.G., Guerineau F., Cosson V., Ratet P. WUSCHEL Overexpression Promotes Callusogenesis and Somatic Embryogenesis in *Medicago truncatula* Gaertn // Plants (Basel) – 2021. – Vol. 10, № 4.

А.К. Аргумбаева, А.О. Рахимжанова, А.К. Каканай, Ш.А. Манабаева
ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы», Нұр-Сұлтан, Қазақстан

***In vitro* жағдайында отандық селекциясының жоңышқа сорттарының соматикалық ұлпаларының морфогенезімен регенерациясының ерекшеліктері**

Аңдатпа. *In vitro* жағдайында отандық селекцияның жоңышқа сорттарының морфогенезімен регенерация ерекшеліктері зерттелді, морфогенді каллус ұлпаларынан регенерант өсімдіктерін алу жағдайлары зерттелді. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде 70% этанол және 10% натрий гипохлоридінің ерітіндісі сияқты стерильдеу агенттерін пайдалана отырып, жоңышқа тұқымын стерильдеу хаттамасы дайындалды, бұл *in vitro* жағдайында жұмыс жасау үшін 100% асептикалық өміршең өскіндерді алу үшін ең жақсы нәтиже берді. Тұқымжарнақ пен өсімдік сабағынан каллус индукциясы Гамборг В5 қоректік ортасында 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы (2,4-Д), кинетин 5,0 мг/л және нафтилсірке қышқылы (НУК) 0,1 мг/л концентрациясында байқалды. Морфогенді каллус индукциясы құрамында 6-бензиламинопурин (БАП) 0,2 мг/л концентрациясы бар Гамборг В5 қоректік ортасында қол жеткізілді. Өркендердің одан әрі құрамында Гамборг В5 дәрумендері қосылған және Гамборг В5 гормоны жоқ қоректік ортада, сондай-ақ 0,2 мг/л кинетин қосылған ортаның жартылай құрамында дамыды. Өзгермелі жоңышқаның каллус ұлпаларынан регенерант өсімдіктерін алудың оңтайланған әдісінің тиімді екендігі анықталды.

Түйін сөздер: жоңышқа, каллус культурасы, фитогормондар, регенерант өсімдіктер.

A.K. Argumbayeva, A.O. Rakhimzhanova, A.K. Kakanay, S.A. Manabayeva
National center for biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

Features of *in vitro* induced morphogenesis and plant regeneration from alfalfa domestic cultivars

Abstract. The authors have studied Morphogenesis and regeneration features of domestic breeding cultivars of alfalfa and conditions for obtaining regenerant plants from the morphogenic callus tissues. As a result of the study, the efficient sterilization protocol of alfalfa seeds was established with the use of sterilizing agents as 70% ethanol and 10% sodium hypochlorite which resulted in the production of 100% aseptically viable seedlings for the further *in vitro* studies. Callus initiation from cotyledons and hypocotyls was implemented on a Gamborg B5 nutrient medium containing 2,4-dichlorophenoacetic acid (2,4-D), kinetin in a concentration of 5,0 mg/l, and naphthaleneacetic acid (NAA) of 0,1 mg/l. Induction of morphogenic callus was achieved on a Gamborg B5 medium with 0,2 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP). Further shoot initiation occurred on a hormone-free Gamborg B5 medium with the addition of Gamborg B5 vitamins, and on a half-strength medium with the addition of 0,2mg/l kinetin. It was found that established method of obtaining regenerated plants from the callus cultures of *Medicago Varia* proved itself effective.

Key words: alfalfa, callus culture, phytohormones, regenerated plants.

References

1. Quiros C.F., Bauchan G.R. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* comp. Agronomy monographs, 2015.
2. Lesins K.A., Lesins I.L. Genus *Medicago* (*Leguminosae*): A Taxogenetic Study. W. Junk. The Hague Netherlands, 1979.
3. Şakiroğlu D.İ. *Medicago sativa* species complex: Revisiting the century-old problem in the light of molecular tools, Crop Science, 61(5), 827-838 (2020).
4. Bora K.S., Sharma A. Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: a review, Pharm Biol., 49(2), 211-220 (2011).
5. Pikun P.T. Lyucerna i ee vozmozhnosti [Lucerne and its possibilities]. (Minsk, Belorusskaya nauka, 2012, 314 p.). [in Russian]
6. Saunders J.W., Bingham E.T. Production of Alfalfa Plants from Callus Tissue, Crop Science, 12(6), 804-808 (1972).
7. Stroeveva N.S., Darhanova V.G. Poluchenie rastenij-regenerantov *Medicago varia* indukciej kallusoobrazovaniya listovykh eksplantov v kul'ture *in vitro*, Nauka i Obrazovanie [Obtaining regenerant plants *Medicago varia* by induction of callus formation of leaf explants in *in vitro* culture, Science and Education], 1, 110-113 (2017). [in Russian]
8. Gonzalez-Duran I.J.L. Morphological stage, chronological age, and accumulated temperatures as predictors of forage quality of field-grown alfalfa (*Medicago sativa* L.), Cornell University, 1998.
9. Hindson S., McElroy A.R., Portelance C. Media and Genotype Effects on the Development and Conversion of Somatic Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) Embryos. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*, 34(3), 181-84 (1998).
10. Wan Y., Sorensen E.L., Liang G.H. Genetic control of *in vitro* regeneration in alfalfa (*Medicago sativa* L.), Euphytica, 39, 3-9 (1998).
11. Sangra A., Shahin L., Dhir S. Long-Term Maintainable Somatic Embryogenesis System in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Using Leaf Explants: Embryogenic Sustainability Approach, Plants, 8, 278-294 (2019).
12. Hawkins C., Yu L. Recent progress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) genomics and genomic selection, The Crop Journal, 6(6), 565-575 (2018).
13. Ghotbi V., Dehghani H., Choucan R., Moeini A. Effects of different auxin solutions on rooting of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) cuttings, Iranian Journal of Filed Crop Science, 48(2), 535-543 (2017).
14. Ticha M., Illesova P., Hrbackova M., Basheer J., Novak D., Hlavakova K., Samajova O., Niehaus K., Ovecká M., Samaj J. Tissue culture, genetic transformation, interaction with beneficial microbes, and modern bio-imaging techniques in alfalfa research. Crit Rev Biotechnol., 40(8), 1265-1280 (2020).
15. Kadri A., Grenier D.G., Guerineau F., Cosson V., Ratet P. WUSCHEL Overexpression Promotes Callogenesis and Somatic Embryogenesis in *Medicago truncatula* Gaertn, Plants (Basel), 10(4), (2021).

Сведения об авторах:

Аргумбаева А.К. - младший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений, «Национальный центр биотехнологии», Нур-Султан, Казахстан.

Рахимжанова А.О. - научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений, «Национальный центр биотехнологии», Нур-Султан, Казахстан.

Каканай А.К. - младший научный сотрудник лаборатории генетической инженерии растений, «Национальный центр биотехнологии», Нур-Султан, Казахстан.

Манабаева Ш.А. - кандидат биологических наук, заведующая лабораторией генетической инженерии растений, «Национальный центр биотехнологии», доцент кафедры общей биологии и геномики, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан.

Argumbayeva A.K. - Junior researcher of the Plant Genetic Engineering laboratory in the «National center for biotechnology», Nur-Sultan, Kazakhstan.

Rakhimzhanova A.O. - Researcher of the Plant Genetic Engineering laboratory in the «National center for biotechnology», Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kakanay A.K. - Junior researcher of the Plant Genetic Engineering laboratory in the «National center for biotechnology», Nur-Sultan, Kazakhstan.

Manabayeva S.A. - Candidate of Biological Sciences, Head of the Plant Genetic Engineering laboratory in the National center for biotechnology, associate professor at the Department of General Biology and Genomics in the L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

А.С. Нұртаза^{1,2}, Д.А. Дюсембекова¹, А.А. Какимжанова^{1*}¹Национальный центр биотехнологии, Нур-Султан, Казахстан²Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

*Автор для корреспонденции: kakimzhanova@biocenter.kz

Оптимизация протокола среднесрочного хранения исчезающего вида *Malus niedzwetzkyana*

Аннотация. Сохранение биоразнообразия требует эффективных методов *ex situ* для хранения генетического материала растений вне естественной среды обитания. Такой подход позволит сохранить ценные, эндемичные и исчезающие виды растений в течение долго времени. Одним из широко используемых методов является среднесрочное хранение в культуре *in vitro*. В нашей работе описаны результаты среднесрочного хранения микроклонально размноженных побегов исчезающего и эндемичного вида яблони Недзвецкого. *In vitro* сохранение было реализовано с помощью осмотических агентов в составе питательной среды. Для этого были изучены условия культивирования: температура (4°C и 24°C) и фотопериод (16/8 и выращивание в темноте), состав питательных сред для замедления роста (сахароза, маннитол, PVP, абсцизовая кислота). Результаты исследований показали, что оптимальным условием для среднесрочного хранения побегов является питательная среда QL с добавлением 3% или 6% сахарозы при стандартных условиях (24°C, фотопериод 16/8). Оптимизированный протокол позволил сохранить экспланты яблони Недзвецкого в течение 2-х месяцев без повторного культивирования. Более того, этап восстановления эксплантов проходил быстро, в течение только одного пассажа.

Ключевые слова: яблоня Недзвецкого, *Malus niedzwetzkyana*, сохранение биоразнообразия, культура *in vitro*, среднесрочное хранение, осмотические агенты, абсцизовая кислота.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-107-122

Введение

Казахстан отличается богатым биоразнообразием и имеет глобальное и региональное значение из-за его географического положения между Северной Европой, Азией и Ближним Востоком. Большая территория, разнообразные почвенно-климатические условия, разнообразие экосистем, а также наличие эндемичных, редких и исчезающих видов флоры, имеющих международное значение, являются причиной богатых генетических ресурсов страны. Флора Казахстана насчитывает около 6000 видов сосудистых растений, относящихся к 161 семейству [1].

Сотни видов этих растений в Казахстане имеют экономическую ценность, например, в качестве лекарств (1400 видов), корма для скота (1028 видов) и в пищевой промышленности (около 500 видов) [2]. Эти растения распределены на 29 основных флористических провинций. Например, горные экосистемы занимают всего 7% территории страны, но каждая горная система представляет собой отдельную флористическую провинцию [3]. Например, площадь зарослей дикой яблони в горах Алатау составляет около 11 тысяч га, где сосредоточены самые крупные ресурсы дикорастущих яблонь в мире [4]. В Каратау было перечислено не менее 180 эндемичных видов. Стоит отметить, что 12% растений являются эндемичными для Казахстана и многие из них находятся в статусе редких и находящихся под угрозой исчезновения. Одним из таких эндемичных и исчезающих видов, впервые найденных в горах, является яблоня Недзвецкого [3].

Яблоня Недзведского - дикий мелкоплодный вид, который в природе обитает в горных лесах Тянь-Шаня. Это дерево высотой 6-8 м [4]. Яблоня светолюбива, но переносит затенение, отличается значительной морозоустойчивостью, стойкостью против высоких летних температур, нетребовательна к почве и устойчива к вредителям [5, 6, 7]. Также вид признан родственником одомашненных культурных яблонь и является важным генофондом для селекции и интродукции [8].

Однако в настоящее время яблоня Недзведского находится под угрозой исчезновения, обусловленного почти полным отсутствием естественного семенного возобновления, перекрестного опыления, хозяйственной деятельностью человека, выпасом скота, отсутствием защитных и лесовосстановительных мер [9]. В настоящее время яблоня Недзведского является редким и исчезающим видом, который занесен в Красную книгу Казахстана [10] и в Международный Красный лист [11], в связи с этим и сохранение и воспроизводство этого ценного вида – остроящая задача.

Сохранение такого ценного генетического материала растений может осуществляться методами *in situ* и *ex situ*. В первом случае виды сохраняются в их естественной среде обитания с помощью методов сохранения среды обитания и управления экосистемами [12]. Для этого используются природные парки, заповедники, ботанические сады и памятники природы, тем самым создаются благоприятные условия для роста и размножения растений в естественных местах происхождения [13, 14]. Так, в Кыргызстане были собраны семена 59 деревьев яблони Недзведского и заложены 4 минипитомника для реинтродукции этого вида [9]. Чаше яблоню можно встретить в городах или отдельных ботанических садах, но в очень небольшом количестве [15, 16]. Более того, исследования показали, что у существующих экземпляров в естественной среде присутствует генетическая эрозия, которая происходит в процессе опыления с другими видами. Таким образом, теряются исходные генетические формы. Были обнаружены деревья с разными морфологическими характеристиками листьев и плодов. Плоды отличались по вкусу, консистенции, срокам созревания, интенсивности окраски мякоти, кожуры, форме кроны, кроне и облиственности [9]. Чаше яблоню Недзведского можно встретить в городах или отдельных ботанических садах, но в очень небольшом количестве [15, 16]. В Казахстане яблоня Недзведского произрастает в Жонгар-Алатауском государственном национальном природном парке [17], в Главном ботаническом саду Алматы (в виде плодовых генотипов), в помологическом саду Алматы, в Астанинском ботаническом саду и парках города Нур-Султан маленькими популяциями. Однако работ по восстановлению вида опубликовано не было и численность продолжает сокращаться. Яблоня Недзведского находится в статусе очень редкого вида, особи которого sporadически распределены фрагментарными популяциями [18].

Эти данные ясно демонстрируют необходимость применения методов *ex situ* для сохранения и восстановления вида. Более того, защита и охрана материала не обеспечивают восстановление и размножение растений [19]. А поскольку популяции яблони Недзведского уязвимы и ресурсы маточного материала ограничены, важно внедрять экономически и экологически эффективные стратегии сохранения в рамках существующих экземпляров. Это позволит максимизировать шансы на выживание и сохранение вида.

Метод *ex situ* сохраняет биологические материалы в искусственных условиях с возможностью их повторного введения в их естественную среду обитания. Это обеспечит гарантию от случайной потери генетических ресурсов [12]. Одним из таких эффективных методов сохранения генетического материала растений является культура *in vitro*.

Культура *in vitro* – это культивирование органов растений или целых растений на искусственной питательной среде [20]. Это позволяет хранить материал в культуре *in vitro* длительное время. Сохранение зародышевой плазмы растений *in vitro* реализуется путем создания условий для медленного роста, что обеспечивает кратко-/среднесрочное хранение.

Среднесрочное хранение предполагает сохранение культур в условиях, ограничивающих рост на искусственной питательной среде. Темп роста культур может ограничиваться различными методами, включая понижение температуры, снижение интенсивности света, или манипуляции с культуральной средой путем добавления веществ, изменяющих осмотическое давление или ингибирующих рост [21]. Среднесрочное хранение позволяет сохранить клоны в течение нескольких месяцев или лет (в зависимости от вида) в асептических условиях, не требуя частой пересадки. В общей практике для среднесрочного хранения широко используются осмотические агенты, абсцизовая кислота (АБК), низкая температура и культивирование в темноте. В качестве осмотических агентов используют сахарозу, маннит и сорбитол [22].

Использование осмотических агентов признано эффективным методом для замедления роста растений в культуре *in vitro*. Они снижают метаболическую активность растений, не влияя на жизнеспособность, а также увеличивают срок хранения различных видов растений [23]. В исследованиях подбора условий для хранения эксплантов *Mandevilla moricandiana* сорбитол и глюкоза положительно способствовали развитию растений. Были получены низкая скорость размножения в период медленного роста и высокий уровень размножения при дальнейшем восстановлении эксплантов [24].

Также, для среднесрочного хранения широко используется абсцизовая кислота [22]. Гормон служит сигналом и ответом на многие стрессовые факторы и повышает устойчивость к ним [25, 26]. Абсцизовая кислота считается ингибитором роста растений и используется в качестве замедлителя роста в культуре тканей растений [27].

Также модификация условий выращивания эксплантов в период среднесрочного хранения является результативным способом. Так, для хранения побегов *Olea europaea* эффективным был признан метод хранения побегов при температуре 4°C или в полной темноте. Это позволило получить 80-90% жизнеспособных эксплантов после 8 месяцев хранения [28]. Хотя у разных генотипов винограда снижение температуры до 10°C приводило к гибели и 20°C были оптимальной температурой для длительного поддержания и дальнейшего размножения [29].

Для среднесрочного хранения яблони были разработаны разные протокола. Например, для *Malus domestica* и *Malus sieversii* использовали среду МС с 3% сахарозой и выращивали при 4°C. Экспланты сохраняли свою жизнеспособность в течение 21 месяца [30]. *Malus pumila* × *Gala* культивировали на среде МТ с БАП 0,5 мг/л и НУК 0,05 мг/л с добавлением 2% сахарозы и 2% маннитола, интервал повторного культивирования составил 12 месяцев [31]. Экспланты *Malus pumila* × *Moscatella* для среднесрочного хранения культивировали на безгормональной среде ½ MS при 4°C в темноте. Такие же условия подошли для *Malus pumila* × *Starkspur* (½ MS при 4°C в темноте), где через 18 месяцев 90% растительного материала сохранили свою жизнеспособность [32].

Несмотря на опубликованные работы по среднесрочному хранению яблони, исследований очень мало. Работы по изучению среднесрочного хранения яблони Недзвецкого отсутствуют, и этот вопрос требует изучения. Целью исследования являлась разработка среднесрочного хранения побегов яблони Недзвецкого. Так, в нашей работе были оптимизированы условия культивирования, использование осмотических агентов и абсцизовой кислоты для разработки технологии среднесрочного хранения побегов в культуре *in vitro* яблони Недзвецкого.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали *in vitro* побеги однолетних побегов яблони Недзвецкого. Побеги были получены по ранее разработанному протоколу микроклонального размножения [33]. Растительный материал был собран в городе Нур-Султан, Казахстан.

Питательную среду QL готовили по стандартному протоколу [34] с добавлением 30 гр. сахарозы и 7 гр. агар. Осмотические агенты маннитол и PVP (поливинилпирролидон) добавляли до стерилизации питательной среды. Абсцизовую кислоту добавляли после стерилизации питательной среды, предварительно простерилизовав с помощью мембранного фильтра, размер пор 0,20 мкм. Используемые реагенты были приобретены у Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Для всех питательных сред pH устанавливали на значении 5.8 до автоклавирования при 121 °C в течение 20 минут.

Для разработки среднесрочного хранения в культуре *in vitro* побегов было изучено влияние осмотических агентов, светового и температурного режимов. В качестве контроля была использована среда для микроклонального размножения побегов яблони Недзвецкого. Это позволит сравнить скорость развития в стандартных условиях и скорость развития растений на исследуемых вариантах. Для этого были выбраны следующие варианты: I вариант (контроль) – среда QL с 3% сахарозой; БАП 0,5 мг/л; ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8); II вариант – среда QL с 3% сахарозой (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8); III вариант – среда QL с 6% сахарозой (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8); IV вариант – среда QL с 9% сахарозой (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8); V вариант – среда QL с 12% сахарозой (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8); VI вариант – среда QL с 3% сахарозой (культивирование при 4°C, фотопериод 16/8); VII вариант – среда 1/2 QL с 3% сахарозой (культивирование при 4°C, в темноте); VIII вариант – среда QL с 2% сахарозой, 2% маннитол (культивирование при 4°C, фотопериод 16/8); IX вариант – среда QL с 7% сахарозой, 1% PVP (культивирование при 4°C, фотопериод 16/8); X вариант – среда QL с 3% сахарозой и абсцизовой кислотой (АБК) 10 мг/л (культивирование при 24°C, фотопериод 16/8). Фенологические замеры проводили на 60-й день культивирования.

Результаты эксперимента были протестированы дисперсионным анализом, и значимые различия были отобраны с использованием апостериорного теста Тьюки в SPSS 23.0 (IBM Inc., Нью-Йорк, США). Данные выражены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка.

Результаты и обсуждение

Основной задачей технологии среднесрочного хранения являются подбор оптимальных условий культивирования (температура и фотопериод), состав питательных сред для замедления роста [35]. Однако применение ингибиторов роста сопряжено с некоторыми проблемами: 1 - аномальный рост растений и трудности в последующей регенерации; 2 - развитие новых устойчивых линий; 3 - возможные генетические изменения [36]. Следовательно, необходим индивидуальный подход при выборе условий, замедляющих рост для смягчения, указанных выше проблем. Основная цель защиты зародышевой плазмы растений с использованием культуры *in vitro* состоит в том, чтобы сохранить генетическую целостность и ограничить количество пассажей, не подвергая опасности растительный материал [37].

Наиболее распространенным методом, используемым в культуре *in vitro*, является снижение температуры, но с избеганием обморожения эксплантов [38]. Например, семена *Hibiscus moscheutos* были успешно сохранены при 5°C в течение 36 месяцев [39], а побеги фитонии при 4°C в течение 3 месяцев [40]. Также изменение источника углерода оказывает заметное влияние на скорость роста [36], снижая водный потенциал воды в клетках. Осмотические агенты, такие как маннитол, сахароза и сорбит относятся к числу широко используемых веществ. Добавление осмотических агентов в питательную среду эффективно замедляет рост и увеличивает время жизнеспособного хранения разных видов растений в культуре *in vitro* [41]. Поиск эффективных условий для разных видов растений продолжается и общепринятый протокол отсутствует. Например, для среднесрочного хранения эксплантов *Drimyopsis kirkii*

использовали альгинат натрия [42]. Экспланты *Metrosideros excels* (36 месяцев) и *Photinia × fraseri* (4 месяца) хранили в темноте при 4-10°C [43]. Работ по среднесрочному хранению яблони мало. Первая работа по сохранению *Malus domestica* Borkh в условиях *in vitro* была опубликована в 1979 году, где экспланты хранили при 1°C - 4°C в течение 12 месяцев [44]. Дополнительные исследования указывают на аналогичный успех с другими видами *Malus* и сортов со сроком хранения от 9 месяцев до 3,5 лет, где также снижали температуру хранения эксплантов до 4°C [45].

В настоящее время для сохранения исчезающих и эндемичных видов Казахстана среднесрочное хранение яблони требует изучения, в особенности такого ценного и редкого вида, как яблоня Недзвецкого. Так, в нашем исследовании для среднесрочного хранения побегов были изучены питательные среды (QL и ½ QL), замедлители роста (сахароза, маннитол, PVP и абсцизовая кислота), световой (культивирование в темноте) и температурный режимы (24°C и 4°C).

Результаты исследований показали, что для яблони Недзвецкого оптимальным условием для среднесрочного хранения микропобегов является культивирование на питательную среду QL с 3% или 6% сахарозой (II и III варианты) (таблица 1, рисунок 1). Присутствовал незначительный прирост: 0,18 см в высоту и 1,65 шт листьев на варианте II; 0,48 см в высоту и 0,8 шт листьев на варианте III. У эксплантов не наблюдалось внешних изменений, они имели сочный зеленый цвет. Микропобеги остановили рост, но сохранили свою жизнеспособность (таблица 1, рисунок 1).

Использование сахарозы в более высокой концентрации показало более худшие результаты. На варианте IV (9% сахароза) зафиксировано уменьшение количества листьев (-0,05 шт), высота побегов почти не увеличилась (+0,05 см). Однако несмотря на отсутствие роста, что было задачей в нашем исследовании, листья эксплантов внешне выглядели хуже. Экспланты имели менее насыщенный зеленый цвет (таблица 1, рисунок 1). При использовании 12% сахарозы (вариант V) были получены схожие результаты с вариантом IV. Экспланты выглядели слабее, чем при использовании 3% или 6% сахарозы. Наблюдалась отрицательная динамика по исследуемым параметрам (-0,14 см в высоту и -0,95 шт листьев) (таблица 1, рисунок 1). В других исследованиях культивирование эксплантов с 90 или 120 г/л сахарозой показало положительный результат у *Chlorophytum borivillianum*. Также авторами отмечена 100% регенерация при повторном культивировании в стандартных условиях. Экспланты сохраняли свою жизнеспособность до 4-х месяцев [46].

У варианта VIII наблюдалось снижение высоты побегов (-0,07 см) и количества листьев (-1,80 шт). Растения были ослаблены, имели бледно-зеленый цвет (таблица 1, рисунок 1). Так, добавление осмотического агента маннитол не подошло для хранения побегов яблони Недзвецкого. Также опубликованы другие исследования, которые подтверждают негативный эффект маннитол на растения. Добавление в питательную среду маннитол способствовало высокой смертности, низкому росту и коэффициенту размножения в период восстановления. Также высокая концентрация маннитол может вызывать гибель растений [47]. Другие исследования подтверждают неэффективность маннитол при среднесрочном хранении *Hancornia speciosa* [48] и *Macrosyphonia velame* [24]. У *Mandevilla velutina* процесс восстановления проходил медленнее и был получен низкий коэффициент размножения [49]. Хотя в других исследованиях авторами был достигнут положительный результат при хранении эксплантов, исчезающих видов растений рода *Turbini carpus*. Успешное использование маннитол для среднесрочного хранения было продемонстрировано на *Malus pumila* cv Gala. Была получена 100%-ная регенерация после 12 месяцев хранения [31]. Использование PVP (вариант IX) показало результат хуже. Растения были слабые, при повторном культивировании листья опадали, и дальнейшее восстановление растений было невозможным. Уменьшились высота побегов -0,26 см и количество листьев -2,35 шт (таблица 1, рисунок 1).

Таблица 1

Влияние условий для среднесрочного хранения побегов яблони Недзвецкого

Вариант	День 1		День 50		Прирост	
	Высота побега, см	Кол-во листьев, шт	Высота побега, см	Кол-во листьев, шт	Высота побега, см	Кол-во листьев, шт
I – QL с 3% сахарозой; БАП 0,5 мг/л; ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л (24°C, фотопериод 16/8)	1,45±0,02	5,05±0,18	2,98±0,06	16,20±0,65	1,53	11,15
II – QL с 3% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)	1,44±0,03	4,95±0,20	1,62±0,03*	6,60±0,30*	0,18	1,65
III – QL с 6% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)	1,55±0,04	5,65±0,21	2,03±0,08*	6,45±0,25*	0,48	0,8
IV – QL с 9% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)	1,56±0,03	4,95±0,15	1,61±0,04*	4,90±0,18*	0,05	-0,05
V – QL с 12% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)	1,40±0,03	5,55±0,22	1,26±0,04*	4,60±0,15*	-0,14	-0,95
VI – 1/2 QL с 3% сахарозой (4°C, фотопериод 16/8)	1,37±0,04	4,40±0,17	1,11±0,03*	3,80±0,19*	-0,26	-0,6
VII – 1/2 QL с 3% сахарозой (в 4°C, в темноте)	1,47±0,03	5,90±0,20	1,34±0,02*	4,00±0,24*	-0,13	-1,9
VIII – QL с 2% сахарозой, 2% маннитол (4°C, фотопериод 16/8)	1,61±0,03	5,65±0,21	1,54±0,02*	3,85±0,23*	-0,07	-1,8
IX – QL с 7% сахарозой, 1% PVP (4°C, фотопериод 16/8)	1,40±0,03	5,95±0,26	1,14±0,03*	3,60±0,23*	-0,26	-2,35
X–QL с 10 мг/л АБК (24°C, фотопериод 16/8)	1,46±0,03	5,50±0,24	1,43±0,03*	3,55±0,22*	-0,03	-1,95

Примечание – *. Средняя разница значима на уровне 0,05

Снижение температуры до +4°C было неэффективным для среднесрочного хранения побегов яблони Недзвецкого. Экспланты были слабые, наблюдалось изменение формы листовой пластинки. На варианте VI замечено уменьшение высоты (-0,26 см) и количества листьев (-0,6 шт). Экспланты были бледно-зеленого цвета. Листья слабые. Культивирование при +4°C и в условиях темноты (вариант VII) еще более уменьшило количество листьев (-1,9 шт) (таблица 1). Стебель и листья начинали желтеть (рисунок 1). Хотя для *Malus pumila* cv Moscatella эти условия позволили хранить экспланты в течение 12 месяцев, с последующей 100% регенерацией [32]. Хранение эксплантов при +4°C было успешно применено для *Malus domestica* и *Malus sieversii*. Побеги сохраняли свою жизнеспособность в течение 21 месяца [30].

Относительно средние результаты, полученные на вариантах VI и VII связаны с составом среды (таблица 1, рисунок 1). В средах отсутствовали осмотические агенты, содержание сахарозы было стандартным (30 гр/л). Положительный эффект, также можно связать с отсутствием экзогенных гормонов в среде. Например, при среднесрочном хранении исчезающего *Centaurea rigualii* побеги были культивированы на безгормональную среду МС в стандартных условиях (24°C, фотопериод 16/8), где жизнеспособность сохранялась до 20 месяцев [50].

Использование абсцизовой кислоты показало среднее значение. Наблюдалось уменьшение

высоты побегов на -0,03 см, и количество листьев уменьшилось на -1,95 шт. Растения были бледные, листья мелкие (таблица 1, рисунок 1). Хотя для *Taraxacum ripeniscum* использование абсцизовой кислоты было оптимальным вариантом. Материал хранили до 9 месяцев [51]. Экспланты *Vitis heuflera* хранили до 12 месяцев с последующей 48%-ной регенерацией [52]. Эффективность абсцизовой кислоты зависит от генотипа. Например, сорт ТМ-6 показал положительные результаты при наличии абсцизовой кислоты в среде. Обратный результат был получен у сорта «Грушовка Верненская», где микропобеги благополучно хранились без добавления этого гормона [30]. Авторами подтверждается, что низкий уровень БАП и абсцизовой кислоты приводит к наихудшему хранению яблони, тогда как при добавлении только БАП экспланты успешно хранились до 14 месяцев [32].

В целом, из результатов видно, что выбранные варианты условий приостанавливали рост побегов яблони Недзвецкого. Относительно контрольного варианта, где была использована стандартная среда для мультипликации, все 9 вариантов имели значительную разницу. Так, на варианте I (контроль) был получен наибольший прирост по высоте (1,53 см) и количеству листьев (11,15), на других вариантах таких высоких значений не наблюдалось (таблица 1, рисунок 1).



I – QL с гормонами БАП 0,5 мг/л; ГК 1,0 мг/л и ИМК 0,01 мг/л (24°C, фотопериод 16/8)



II – QL с 3% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)



III – QL с 6% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)



IV – QL с 9% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)

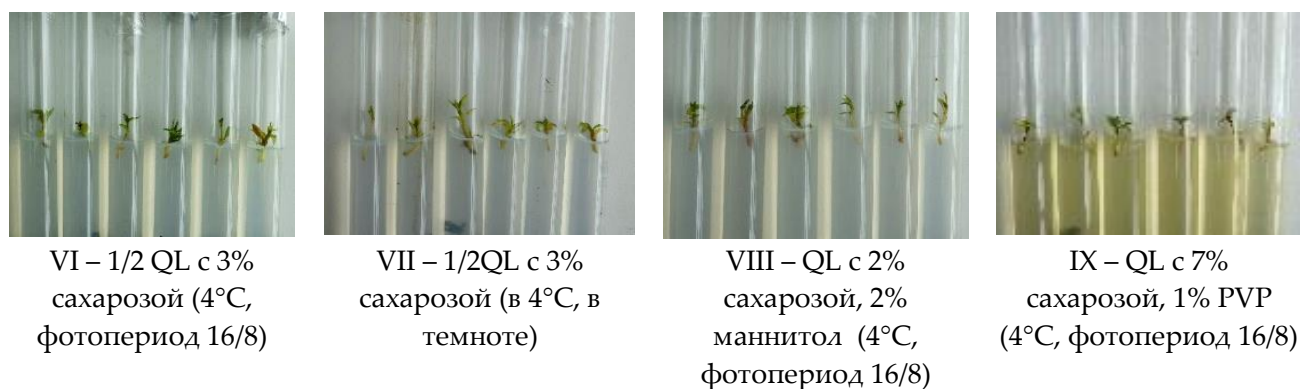


V – QL с 12% сахарозой (24°C, фотопериод 16/8)



X – QL с 10 мг/л АБА (24°C, фотопериод 16/8)

а – Исследуемые варианты среднесрочного хранения при стандартных условиях культивирования (24°C, фотопериод 16/8)



б - Исследуемые варианты среднесрочного хранения при 4°C

Рисунок 1. Подбор оптимальных условий для медленного роста побегов яблони Недзвецкого

Период восстановления после среднесрочного хранения растений является важным индикатором успеха протокола. После пересадки эксплантов на стандартную среду растения должны вернуться к оптимальному росту *in vitro* для дальнейшего микроклонального размножения по мере необходимости. В нашем исследовании экспланты вернули способность к размножению дополнительных побегов. После пересадки на среду мультипликации через 35 дней были образованы новые дополнительные побеги. На рисунке 2 показано восстановление после среднесрочного хранения микропобегов на среде QL с добавлением 6% сахарозы. Так, оптимизированные условия среднесрочного хранения яблони Недзвецкого не требуют дорогостоящих регуляторов роста, что является экономически выгодным методом. Эти результаты подтверждают эффективность выбранного протокола. Изучение литературы по восстановлению эксплантов после среднесрочного хранения яблони показали, что для дальнейшего размножения необходимое количество пассажей было 3. Однако количество и сроки пересадки различались в зависимости от генотипа и культуры [53].



а – Микропобег яблони Недзвецкого через 50 дней на стандартной среде

б – Микропобег на стандартной среде (6 пассаж) и микропобег после среднесрочного хранения на среде QL с 3% (вариант II) (1 пассаж)

Рисунок 2. Восстановление микропобегов яблони Недзвецкого после среднесрочного хранения

Заключение

Таким образом, для среднесрочного хранения в культуре *in vitro* побегов яблони Недзвецкого наиболее оптимальным условием является среда QL с добавлением 3% или 6% сахарозы при стандартных условиях культивирования при 24°C, фотопериод 16/8. Побег приостановили рост, размножение и сохранили свою жизнеспособность в течение двух месяцев. Более того, побег после среднесрочного хранения отличался от побегов со стандартной среды, которые размножались в течение 6 пассажей. Количество размноженных побегов было меньше в три раза, но они имели более насыщенный зеленый цвет, развитые листья и утолщенный стебель. Также оптимизированный протокол позволит сократить расходы на лабораторные реагенты.

Финансирование. Данная исследовательская работа была выполнена в рамках научно-исследовательской работы по научно-технической программе «Создание биобанка редких и исчезающих видов флоры и фауны Казахстана для сохранения биоразнообразия» на 2021-2022 годы».

Список литературы

1. Gemedjieva N., Jaime, Teixeira da Silva A., Ryabushkina N. Representation of Endemics in Floristic Subprovinces of Kazakhstan //The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. – 2010. – Vol. 4. – P. 56-63.
2. Grudinskaya L.M., Tazkulova N. Introductory valuation of plants in the Apiaceae Lindl. family //Fundamental and applied botany problems at the start of the 21st century: all-Russian conference. – Petrozavodsk, 2008. – P. 217-220.
3. Ryabushkina N., Gemedjieva N., Kobaisy M., Cantrell C.L. Brief review of Kazakhstan flora and use of its wild species //Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. – 2008. – Vol. 2(2). – P. 64-71.
4. Ромаданова Н.В., Кушнаренко С.В. Биотехнология получения безвирусных саженцев яблони //Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. – 2021. – Т. 103(3). – С. 102-118.
5. Яременко Л.М. Биологические особенности декоративных видов рода яблоня (*Malus* Mill.) и перспективы их использования: автореф. дис. канд. биол. наук. – Киев, 1964. – 3 с.
6. Janick J. Horticultural reviews: wild apple and fruit trees of central Asia //John Wiley & Sons. – 2003. – Vol. 29. – P. 33-97.
7. Джангалиев А.Д. Дикая яблоня Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1977. – 246 с.
8. Соломатин Н.М., Соломатина Е.А., Сорокопудов В.Н. Оценка плодов красномякотных гибридов яблони для производства компотов //Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Т. 51. – С. 312-317.
9. Шалпыков К.Т., Бирченкоуш Л., Тургунбаев К.Т., Кенжебаев С.К., Лазыков Г.А., Долотбаков А.К., Акуналиев Т.А., Бейшенбеков М.А. Формовое разнообразие яблони Недзвецкого (*Malus niedzwetzkyana* Dieck.) в орехово-плодовых лесах Южного Кыргызстана //Материалы Международной научно-практической конференции «Сохранение и устойчивое использование биоразнообразия плодовых культур и их диких сородичей». – Бишкек, 2011. – С. 25-28.
10. Red Book. Wild species of flora of the USSR in need of protection. – Leningrad: Nauka, 1975.
11. International Union for Conservation of Nature: The IUCN red list of threatened species. [Electron. resource] – URL: <http://www.iucnredlist.org/search/> (дата обращения: 20.02.2022).
12. Ruta C., Lambardi M., Ozudogru E.A. Biobanking of vegetable genetic resources by in vitro conservation and cryopreservation //Biodiversity and Conservation. – 2020. – P. 1-38.

13. Байтулин И.О. К проблеме сохранения хозяйственно-ценных редких видов растений //Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2008. – Т. 1. – С. 3-7.
14. Gonzalez-Benito M.E., Martín C. In vitro preservation of Spanish biodiversity //In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. – 2011. – Vol. 47. – P.46-54.
15. Богачева И.А. Сообщества насекомых-филлофагов зеленых насаждений Екатеринбурга на разных видах растений родов *Malus*, *Padus*, *Salix* //Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2014. – Т. 4. – С. 56-61.
16. Газиев М.А., Асадулаев З.М., Абдуллатипов Р.А. Интродукция и эколого-морфологическая оценка рода *Malus* Mill на Гунибском плато //Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. – 2011. – Т. 2. – С. 11-16.
17. Флора Жонгар-Алатауского государственного национального природного парка. [Электрон. ресурс] – URL: www.sarkan-zhongaralatau-kz.online/ (дата обращения: 28.02.2022).
18. International Union for Conservation of Nature: Current population trend. [Electron. resource]. – URL: <https://www.iucnredlist.org/species/63477/12681555#population/> (дата обращения: 28.02.2022).
19. Krishnan P.N., Decruse S.W., Radha R.K. Conservation of medicinal plants of Western Ghats, India and its sustainable utilization through in vitro technology //In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 2011. – Vol. 47(1). – P. 110-122.
20. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций: Стандарты генных банков для генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. [Электрон. ресурс] – URL: <https://www.fao.org/3/i3704r/i3704r.pdf/> (дата обращения: 28.02.2022)
21. Engelmann F. Management of field and in vitro germplasm collections // Proceedings of a Consultation Meeting. –Cali, Colombia, 1999.
22. Chauhan R., Singh V., Quraishi A. In vitro conservation through slow-growth storage //In Synthetic seeds. – 2019. – P. 397-416.
23. Bekheet S.A. In vitro conservation of date palm germplasm //Date palm biotechnology. – Springer, Dordrecht, 2011. – P. 337-360.
24. Cordeiro S.Z., Simas N.K., Henriques A.B., Sato A. In vitro conservation of *Mandevilla moricandiana* (Apocynaceae): short-term storage and encapsulation–dehydration of nodal segments //In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 2014. – Vol. 50(3). – P. 326-336.
25. Gopal J., Chamail A., Sarkar D. In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: effect of genotype, abscisic acid, and sucrose //In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. – 2004. – Vol.40. – P. 485-490.
26. Tahtamouni R.W., Shibli R.A., Al-Abdallat A.M., Al-Qudah T.S., Younis L., Al-Baba H., Al-Ruwaiei H. In vitro conservation and cryopreservation of medicinal and aromatic plants: a review //Jordan Journal of Agricultural Sciences. – 2015. – Vol. 11(1). – P. 147-167.
27. Rai M.K., Shekhawat N.S., Gupta A.K., Phulwaria M., Ram K., Jaiswal U. The role of abscisic acid in plant tissue culture: a review of recent progress //Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2011. – Vol. 106(2). – P. 179-190.
28. Lambardi M., Benelli C., De Carlo A., Fabbri A., Grassi S., Lynch P.T. Medium-and long-term in vitro conservation of olive germplasm (*Olea europaea* L.) //IV International Symposium on Olive Growing 586. – Valenzano, Italy, 2000. – P. 109-112.
29. Silva R.C., Luis Z.G., Scherwinski-Pereira J.E. Short-term storage in vitro and large-scale propagation of grapevine genotypes //Pesquisa Agropecuária Brasileira. – 2012. – Vol. 47(3). – P. 344-350.

30. Kovalchuk I., Lyudvikova Y., Volgina M., Reed B.M. Medium, container and genotype all influence in vitro cold storage of apple germplasm //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2009. – Vol. 96(2). – P. 127-136.
31. Hao Y.J., Deng X.X. Genetically stable regeneration of apple plants from slow growth //Plant cell, tissue and organ culture. – 2003. – Vol. 72(3). – P. 253-260.
32. Negri V., Tosti N., Standardi A. Slow-growth storage of single node shoots of apple genotypes //Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2000. – Vol. 62(2). – P. 159-162.
33. Nurtaza A., Magzumova G., Yessimseitova A., Karimova V., Shevtsov A., Silayev D., Kakimzhanova A. Micropropagation of the endangered species *Malus niedzwetzkyana* for conservation biodiversity in Kazakhstan //In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 2021. – Vol. 57(6). – P. 965-976.
34. Quoirin M., Lepoivre P. Improved media for in vitro culture of *Prunus* Sp //Acta Hortic. – 1977. – Vol. 78. – P. 437-442. doi.org/10.17660/ActaHortic.1977.78.54.
35. Tahtamouni R.W., Shibli R.A., Ajlouni M.M. Growth responses and physiological disorders in wild pear (*Pyrus syriaca* Boiss) during slow-growth in vitro preservation on osmostressing media //Plant Tissue Culture. – 2001. – Vol. 11(1). – P. 15-23.
36. Rajasekharan P.E., Sahijram L. In vitro conservation of plant germplasm //Plant biology and biotechnology. – Springer, New Delhi, 2015. – P. 417-443.
37. Moges A.D., Karam N.S., Shibli R.A. Slow growth in vitro preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl) shoot tips //Adv Hortic Sci. – 2003. – Vol. 17. – P. 1-8.
38. Gull I., Noreen A., Aslam M.S., Abbas Z., Athar M.A. Effect of gelling matrix composition, storage conditions and capsule breakage on germination of *Rosa indica* synthetic seeds //Journal of Animal & Plant Sciences. – 2019. – Vol. 29(1). – P. 109-116.
39. West T.P., Ravindra M.B., Preece J.E. Encapsulation, cold storage, and growth of *Hibiscus moscheutos* nodal segments //Plant cell, tissue and organ culture. – 2006. – Vol. 879(3). – P. 223-231.
40. Ozden-Tokatli Y., De Carlo A., Gumusel F., Pignattelli S., Lambardi M. Development of encapsulation techniques for the production and conservation of synthetic seeds in ornamental plants //Propagation of ornamental plants. – 2008. – Vol. 8(1). – P. 17-22.
41. Ekinci H., Çiftçi Y.Ö., Nadarajan J. Medium-and long-term conservation of ornamental plants using synthetic seed technology //Synthetic seeds. – Springer, Cham, 2019. – P. 259-281.
42. Haque S.M., Ghosh B. Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed Production-a Biotechnological Approach for True-to-Type Propagation and In Vitro Conservation of an Ornamental Bulbaceous Plant *Drimiopsis kirkii* Baker //Applied biochemistry and biotechnology. – 2014. – Vol. 172(8). – P. 4013-4024.
43. Benelli C., Micheli M., De Carlo A. An improved encapsulation protocol for regrowth and conservation of four ornamental species //Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2017. – Vol. 86(3). – P. 3559.
44. Lundergan C., Janick J. Low temperature storage of in vitro apple shoots [Germplasm preservation] //HortScience. – 1979. – P. 514.
45. Reed B.M., Chang Y. Medium-and long-term storage of in vitro cultures of temperate fruit and nut crops //Conservation of plant genetic resources in vitro. – 1997. – Vol. 1.
46. Chauhan R., Keshavkant S., Jadhav S.K., Quraishi A. In vitro slow-growth storage of *Chlorophytum borivilianum* Sant. et Fernand: a critically endangered herb //In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 2016. – Vol. 52(3). – P. 315-321.
47. Silva T.L., Scherwinski-Pereira J.E. In vitro conservation of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* under slow-growth conditions //Pesquisa Agropecuária Brasileira. – 2011. – Vol. 46. – P. 384-389.

48. Sá A.J., Lédo A.S., Lédo C.A.S. Conservação in vitro de mangabeira da região nordeste do Brasil //Ciência Rural. – 2011. – Vol. 41. – P. 57-62.
49. Biondo R., Souza A.V., Bertoni B.W., Soares A.M., França S.C., Pereira A.M.S. Micropropagation, seed propagation and germplasm bank of *Mandevilla velutina* (Mart.) Woodson //Scientia Agrícola. – 2007. – Vol. 64(3). – P. 263-268.
50. Sarasan V., Cripps R., Ramsay M.M. Conservation in vitro of threatened plants—progress in the past decade //In vitro Cellular & Developmental Biology–Plant. – 2016. – Vol. 42(3). – P. 206–214.
51. Kamińska M., Tretyn A., Trejgell A. Effect of jasmonic acid on cold-storage of *Taraxacum pieninicum* encapsulated shoot tips //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2018. – Vol. 135(3). – P. 487-497.
52. Pan X., Zhang W.E., Li X. In vitro conservation of native Chinese wild grape (*Vitis heyneana* Roem. & Schult) by slow growth culture //Vitis. – 2014. – Vol. 53(4). – P. 207-214.
53. Arbeloa A., Marín J.A., Andreu P., García E., Lorente P. In vitro conservation of fruit trees by slow growth storage //VI International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1155. – 2015. – P. 101-106.

А.С. Нұртаза^{1,2}, Д.А. Дюсембекова¹, А.А. Какимжанова¹

¹Ұлттық биотехнология орталығы, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

²Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан Қазақстан

Жойылып бара жатқан *Malus niedzwetzkyana* орта мерзімді сақтау хаттамасын оңтайландыру

Аңдатпа. Биоәртүрлілікті сақтау өсімдіктердің генетикалық материалын табиғи ортадан тыс сақтау үшін *ex situ* тиімді әдістерін қажет етеді. Бұл тәсіл құнды, эндемикалық және жойылып бара жатқан өсімдік түрлерін ұзақ уақыт сақтайды. Кеңінен қолданылатын әдістердің бірі - *in vitro* мәдениетінде орта мерзімді сақтау. Мақалада Недзвецкий алма ағашының жойылып бара жатқан және эндемикалық түрлеріу микроклональды көбейтілген өркенін орта мерзімді сақтау нәтижелері сипатталған. *In vitro* сақтау қоректік орта құрамындағы осмотикалық агенттердің көмегімен жүзеге асырылды. Ол үшін өсіру шарттары зерттелді: температура (4°C және 24°C) және фотопериод (16/8 және қараңғыда өсіру), өсуді баяулататын қоректік ортаның құрамы (сахароза, маннитол, PVP, абсцис қышқылы). Зерттеу нәтижелері өркенді орта мерзімді сақтаудың оңтайлы шарты стандартты жағдайларда (24°C, фотопериод 16/8) 3% немесе 6% сахароза қосылған QL қоректік ортасы екенін көрсетті. Оңтайландырылған хаттама Недзвецкий алма ағашының экспланттарын 2 ай бойы қайта өсірусіз сақтауға мүмкіндік берді. Сонымен қатар, экспланттарды қалпына келтіру кезеңі тез өтті, тек бір пассаж кезінде.

Түйін сөздер: Недзвецкий алма ағашы, *Malus niedzwetzkyana*, биоәртүрлілікті сақтау, *in vitro* мәдениеті, орта мерзімді сақтау, осмотикалық агенттер, абсцис қышқылы.

A.S. Nurtaza^{1,2}, D.A. Dyussebekova¹, A.A. Kakimzhanova¹

¹National Center for Biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Optimization of the medium-term storage protocol for the endangered *Malus niedzwetzkyana*

Abstract. The conservation of biodiversity requires efficient *ex situ* methods for the storage of plant genetic material outside the natural habitat. This approach allows for the preservation of valuable, endemic, and endangered plant species for a long time. One widely used method is medium-term storage in *in vitro* culture. In our work, we describe the results of medium-term storage of microclonally

propagated shoots of an endangered and endemic species of the *Malus niedzwetzkyana*. *In vitro* preservation was realized with the help of osmotic agents in the nutrient medium. For this, there were studied the cultivation conditions such as temperature (4°C and 24°C) and photoperiod (16/8 and growing in the dark), and the composition of nutrient media to slow growth (sucrose, mannitol, PVP, abscisic acid). The research results showed that the optimal condition for medium-term storage of shoots is the QL nutrient medium with the addition of 3% or 6% sucrose under standard conditions (24°C, photoperiod 16/8). The optimized protocol made it possible to preserve *Malus niedzwetzkyana* explants for 2 months without recultivation. Moreover, the stage of explant recovery was fast, during only one passage.

Keywords: *Malus niedzwetzkyana*, biodiversity conservation, *in vitro* culture, medium-term storage, osmotic agents, abscisic acid.

References

1. Gemedjiev N., Jaime, Teixeira da Silva A., Ryabushkina N. Representation of Endemics in Floristic Subprovinces of Kazakhstan, The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology, 4, 56-63 (2010).
2. Grudinskaya L.M., Tazkulova N. Introductory valuation of plants in the *Apiaceae* Lindl. Family, Fundamental and applied botany problems at the start of the 21st century: all-Russian conference, Petrozavodsk, 217-220 (2018).
3. Ryabushkina N., Gemedjiev N., Kobaisy M., Cantrell C.L. Brief review of Kazakhstan flora and use of its wild species, Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology, 2(2), 64-71 (2008).
4. Romadanova N.V., Kushnarenko S.V. Biotehnologija poluchenija bezvirusnyh sazhencev jabloni. Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya: Biologiya. Medicina. Geografija [Biotechnology for obtaining virus-free seedlings of apple trees. Bulletin of Karaganda University. Series: Biology. The medicine. Geography], 103(3), 102-118 (2015). [in Russian]
5. Jaremenko L.M. Biologicheskie osobennosti dekorativnyh vidov roda jablonja (*Malus* Mill.) i perspektivy ih ispol'zovaniya: avtoref. dis. kand. biol. Nauk [Biological features of ornamental species of the genus apple tree (*Malus* Mill.) and prospects for their use: Abstract of the dissertation of the candidate of biological sciences] (Kyiv, 1964. 3 p.). [in Russian]
6. Janick J. Horticultural reviews: wild apple and fruit trees of central Asia, John Wiley & Sons, 29, 33-97 (2003).
7. Dzhangaliev A.D. Dikaja jablonja Kazahstana [Wild apple tree of Kazakhstan] (Alma-Ata: Science, 1977, 246 p.). [in Russian]
8. Solomatin N.M., Solomatina E.A., Sorokopudov V.N. Ocenka plodov krasnomjakotnyh gibridov jabloni dlja proizvodstva kompotov, Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii [Evaluation of the fruits of red-fleshed apple hybrids for the production of compotes, Fruit growing and berry growing in Russia], 51, 312-317 (2017). [in Russian]
9. Shalpykov K.T., Birchenough L., Turgunbaev K.T., Kenzhebaev S.K., Laz'kov G.A., Dolotbakov A.K., Akunaliyev T.A., Bejshenbekov M.A. Formovoe raznoobrazie jabloni Nedzveckogo (*Malus niedzwetzkyana* Dieck.) v orehovo-plodovyh lesah Juzhnogo Kyrgyzstana, Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Sohranenie i ustojchivoe ispol'zovanie bioraznoobrazija plodovyh kul'tur i ih dikih sorodichej», Bishkek [Form diversity of the Nedzvetzky apple tree (*Malus niedzwetzkyana* Dieck.) in the walnut-fruit forests of Southern Kyrgyzstan, Proceedings of the International Scientific and Practical Conference "Conservation and sustainable use of the biodiversity of fruit crops and their wild relatives", Bishkek], 25-28 (2011). [in Russian]
10. Red Book. Wild species of flora of the USSR in need of protection (Leningrad, Nauka, 1975).
11. International Union for Conservation of Nature: The IUCN red list of threatened species. [Electronic resource]. Available at: <http://www.iucnredlist.org/search/> (Accessed: 20.02.2022).

12. Ruta C., Lambardi M., Ozudogru E.A. Biobanking of vegetable genetic resources by in vitro conservation and cryopreservation, *Biodiversity and Conservation*, 1, 1-38 (2020).
13. Bajtulin I.O. K probleme sohraneniya hozjajstvenno-cennyh redkih vidov rastenij, *Izvestija NAN RK. Serija biologicheskaja i medicinskaja* [To the problem of conservation of economically valuable rare plant species, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series biological and medical*], 1, 3-7 (2008). [in Russian]
14. Gonzalez-Benito M.E., Martín C. In vitro preservation of Spanish biodiversity, *In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant*, 47, 46-54 (2011).
15. Bogacheva I.A. Soobshhestva nasekomyh-fillofagov zelenyh nasazhdenij Ekaterinburga na raznyh vidah rastenij rodov *Malus*, *Padus*, *Salix*, *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Serija «Biologija. Nauki o Zemle»* [Phyllophagous insect communities of Yekaterinburg green spaces on different plant species of the genera *Malus*, *Padus*, *Salix*, *Bulletin of the Udmurt University. Series "Biology. Earth Sciences"*], 4, 56-64 (2014).
16. Gaziev M.A., Asadulaev Z.M., Abdullatipov R.A. Introdukcija i jekologo-morfologicheskaja ocenka roda *Malus* Mill na Gunibskom plato, *Izvestija Dagestanskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Estestvennye i tochnye nauki*. [Introduction and ecological and morphological assessment of the genus *Malus* Mill on the Gunib Plateau, *Bulletin of the Dagestan State Pedagogical University. Natural and exact sciences.*], 2, 11-16 (2001). [in Russian]
17. Flora Zhongar-Alatauskogo gosudarstvennogo nacional'nogo prirodnogo parka [Flora of Zhongar-Alatau State National Natural Park]. [Electronic resource] – Available at: www.sarkan-zhongaralatau-kz.online/ (Accessed: 28.02.2022). [in Russian]
18. International Union for Conservation of Nature: Current population trend. [Electronic resource]. Available at: <https://www.iucnredlist.org/species/63477/12681555#population/> (Accessed: 28.02.2022).
19. Krishnan P.N., Decruse S.W., Radha R.K. Conservation of medicinal plants of Western Ghats, India and its sustainable utilization through in vitro technology, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 41(1), 110-122 (2011).
20. Prodoval'stvennaja i sel'skohozjajstvennaja organizacija Obedinennyh Nacij: Standarty gennyh bankov dlja geneticheskikh resursov rastenij dlja proizvodstva prodoval'stvija i vedenija sel'skogo hozjajstva [Food and Agriculture Organization of the United Nations: Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture.]. [Electronic resource]. Available at: <https://www.fao.org/3/i3704r/i3704r.pdf/> (Accessed: 28.02.2022). [in Russian]
21. Engelmann F. Management of field and in vitro germplasm collections, *Proceedings of a Consultation Meeting (Cali, Colombia, 1999)*.
22. Chauhan R., Singh V., Quraishi A. In vitro conservation through slow-growth storage, *Synthetic seeds*, 397-416 (2019).
23. Bekheet S.A. In vitro conservation of date palm germplasm, *Date palm biotechnology* (Springer, Dordrecht, 2011, P. 337-360).
24. Cordeiro S.Z., Simas N.K., Henriques A.B., Sato A. In vitro conservation of *Mandevilla moricandiana* (*Apocynaceae*): short-term storage and encapsulation–dehydration of nodal segments, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 50(3). 326-336 (2014).
25. Gopal J., Chamail A., Sarkar D. In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: effect of genotype, abscisic acid, and sucrose, *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 40, 485-490 (2004).
26. Tahtamouni R.W., Shibli R.A., Al-Abdallat A.M., Al-Qudah T.S., Younis L., Al-Baba H., Al-Ruwaiei H. In vitro conservation and cryopreservation of medicinal and aromatic plants: a review, *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 11(1), 147-167 (2015).

27. Rai M.K., Shekhawat N.S., Gupta A.K., Phulwaria M., Ram K., Jaiswal U. The role of abscisic acid in plant tissue culture: a review of recent progress, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 106(2), 179-190 (2011).
28. Lambardi M., Benelli C., De Carlo A., Fabbri A., Grassi S., Lynch P.T. Medium-and long-term in vitro conservation of olive germplasm (*Olea europaea* L.), IV International Symposium on Olive Growing 586, Valenzano, Italy, 109-112 (2000).
29. Silva R.C., Luis Z.G., Scherwinski-Pereira J.E. Short-term storage in vitro and large-scale propagation of grapevine genotypes, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(3), 344-350 (2012).
30. Kovalchuk I., Lyudvikova Y., Volgina M., Reed B.M. Medium, container and genotype all influence in vitro cold storage of apple germplasm, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 96(2), 127-136 (2009).
31. Hao Y.J., Deng X.X. Genetically stable regeneration of apple plants from slow growth, *Plant cell, tissue and organ culture*, 72(3), 253-260 (2003).
32. Negri V., Tosti N., Standardi A. Slow-growth storage of single node shoots of apple genotypes, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62(2), 159-162(2000).
33. Nurtaza A., Magzumova G., Yessimseitova A., Karimova V., Shevtsov A., Silayev D., Kakimzhanova A. Micropropagation of the endangered species *Malus niedzwetzkyana* for conservation biodiversity in Kazakhstan, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 57(6). 965-976 (2021).
34. Quoirin M., Lepoivre P. Improved media for in vitro culture of *Prunus* Sp, *Acta Horti*, 78, 437-442 (1977).
35. Tahtamouni R.W., Shibli R.A., Ajlouni M.M. Growth responses and physiological disorders in wild pear (*Pyrus syriaca* Boiss) during slow-growth in vitro preservation on osmostressing media, *Plant Tissue Culture*, 11(1), 15-23 (2001).
36. Rajasekharan P.E., Sahijram L. In vitro conservation of plant germplasm, *Plant biology and biotechnology* (Springer, New Delhi, 2015., P. 417-443).
37. Moges A.D., Karam N.S., Shibli R.A. Slow growth in vitro preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl) shoot tips, *Adv Horti Sci.*, 17, 1-8 (2003).
38. Gull I., Noreen A., Aslam M.S., Abbas Z., Athar M.A. Effect of gelling matrix composition, storage conditions and capsule breakage on germination of *Rosa indica* synthetic seeds, *Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(1), 109-116 (2019).
39. West T.P., Ravindra M.B., Preece J.E. Encapsulation, cold storage, and growth of *Hibiscus moscheutos* nodal segments, *Plant cell, tissue and organ culture*, 879(3), 223-231 (2006).
40. Ozden-Tokatli Y., De Carlo A., Gumusel F., Pignattelli S., Lambardi M.. Development of encapsulation techniques for the production and conservation of synthetic seeds in ornamental plants, *Propagation of ornamental plants*, 8(1), 17-22 (2008).
41. Ekinci H., Çiftçi Y.Ö., Nadarajan J. Medium-and long-term conservation of ornamental plants using synthetic seed technology, *Synthetic seeds*. (Springer, Cham, 2019, P. 259-281).
42. Haque S.M., Ghosh B. Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed Production—a Biotechnological Approach for True-to-Type Propagation and In Vitro Conservation of an Ornamental Bulbaceous Plant *Drimiopsis kirkii* Baker, *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(8), 4013-4024 (2014).
43. Benelli C., Micheli M., De Carlo A. An improved encapsulation protocol for regrowth and conservation of four ornamental species, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 86(3), 3559 (2017).
44. Lundergan C., Janick J. Low temperature storage of in vitro apple shoots [Germplasm preservation], *HortScience*, 514 (1979).
45. Reed B.M., Chang Y. Medium-and long-term storage of in vitro cultures of temperate fruit and nut crops, *Conservation of plant genetic resources in vitro*, 1, (1997).

46. Chauhan R., Keshavkant S., Jadhav S.K., Quraishi A. In vitro slow-growth storage of *Chlorophytum borivillianum* Sant. et Fernand: a critically endangered herb, *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52(3), 315-321 (2016).
47. Silva T.L., Scherwinski-Pereira J.E. In vitro conservation of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* under slow-growth conditions, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46, 384-389 (2011).
48. Sá A.J., Léo A.S., Léo C.A.S. Conservação *in vitro* de mangabeira da região nordeste do Brasil, *Ciência Rural*, 41, 57-62 (2011).
49. Biondo R., Souza A.V., Bertoni B.W., Soares A.M., França S.C., Pereira A.M.S. Micropropagation, seed propagation and germplasm bank of *Mandevilla velutina* (Mart.) Woodson, *Scientia Agricola*, 64(3), 263-268 (2007).
50. Sarasan V., Cripps R., Ramsay M.M. Conservation in vitro of threatened plants—progress in the past decade, *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 42(3), 206-214 (2016).
51. Kamińska M., Tretyn A., Trejgell A. Effect of jasmonic acid on cold-storage of *Taraxacum pieninicum* encapsulated shoot tips, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 135(3), 487-497 (2018).
52. Pan X., Zhang W.E., Li X. In vitro conservation of native Chinese wild grape (*Vitis heyneana* Roem. & Schult) by slow growth culture, *Vitis*, 53(4), 207-214 (2014).
53. Arbeloa A., Marín J.A., Andreu P., García E., Lorente P. In vitro conservation of fruit trees by slow growth storage, VI International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1155, 101-106 (2015).

Сведения об авторах:

Нуртаза А.С. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Дюсембекова Д.А. – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Какимжанова А.А. – д.б.н., доцент, зав. лабораторией биотехнологии и селекции растений Национального центра биотехнологии, Кургальжинское шоссе, 13/5, Нур-Султан, Казахстан.

Nurtaza A.S. – researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Dyussebekova D.A. – researcher of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kakimzhanova A.A. – doctor of biological sciences, associated professor, head of the laboratory of biotechnology and plant breeding, National Center for Biotechnology, 13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, Kazakhstan.

А.К. Сибатаев*, С.С. Алексеева, Ю.В. Андреева, И.Э. Вассерлауф

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

*Автор для корреспонденции: anuar@mail.tsu.ru

Исследование инвазивного вида кровососущего комара *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) Казахстана

Аннотация. Проведен морфологический и кариотипический анализ инвазивного вида комара *Aedes koreicus* из Республики Казахстан. Показано, что личинки *Ae. koreicus* из Республики Казахстан имеют типичную для этого вида морфологию. Также были изучены метафазные хромосомы данного вида, полученные из имагинальных дисков личинок 4-го возраста. Проведено лактоацетоорсеиновое окрашивание хромосом, рассчитаны значения относительных длин и центромерный индекс хромосом *Ae. koreicus*. Показано, что все три пары хромосом *Ae. koreicus* являются метацентрическими, хромосома 1 значительно короче хромосом 2 и 3 и является гомоморфной, как и у других видов рода *Aedes*.

Ключевые слова: Казахстан, кровососущие комары, инвазивный вид, *Aedes koreicus*, метафазные хромосомы.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-139-2-123-131

Введение

Среди инвазивных видов комаров, зарегистрированных по всему миру, наиболее распространенными являются комары рода *Aedes*, которые представляют опасность для здоровья человека, т.к. являются признанными или потенциальными переносчиками возбудителей заболеваний [1, 2].

Одним из таких видов является *Ae. koreicus* Edwards 1917, который активно распространяется по территориям стран, где ранее его наличие не было зарегистрировано. Впервые как инвазивный вид он был обнаружен в 2008 г. в Бельгии [3], позднее в Италии [4], России [5, 6], Германии [7] и в других странах Европы [8]. Естественным ареалом *Ae. koreicus* являются Корея, Китай, Япония и Дальний Восток России [9]. Комары этого вида считаются потенциальными переносчиками вируса японского энцефалита, дирофиляриозов, вируса чикунгунья [10].

В связи с распространением инвазивных видов комаров в ранее несвойственные им регионы они стали объектом массовых исследований. В последние десятилетия молекулярные и цитогенетические методы начали играть важную роль в традиционной систематике комаров. Большую популярность приобрели молекулярные методы исследования, к числу которых относятся анализ регионов рДНК (ITS1, ITS2), метод ДНК –штрихкодирования (ген COI митохондриальной ДНК), микросателлитные ДНК и др. [2]. Наряду с этими методами используются и цитогенетические исследования. Кровососущие комары уже много лет являются объектами интенсивного цитогенетического изучения. Анализ кариотипов разных видов комаров позволяет выявлять их видовую принадлежность, а также используется в изучении эволюции и таксономии видов.

Одним из факторов распространения инвазивных видов стало растущее движение товаров и людей по всему миру. На территории Средней Азии и Казахстана давно не проводилось фаунистических исследований немалярийных комаров с использованием молекулярных и

цитогенетических методов. Последние сведения по видовому составу кровососущих комаров Республики Казахстан принадлежат Дубицкому А.М. (1970) [11]. Согласно его данным, фауна комаров р. *Aedes* в Казахстане была представлена 38 видами. Достаточно теплый климат южных регионов Казахстана и развивающаяся экономика страны являются весьма благоприятными факторами для распространения инвазивных видов комаров на ее территории.

Материалы и методы

Материалом для данного исследования послужили выборки личинок комаров четвертого возраста, собранные в 2018, 2019 г.г. в г. Алматы (табл. 1). Личинок фиксировали в растворе Карнуа (в соотношении 3:1 – этанол: ледяная уксусная кислота).

Морфологическое определение видов личинок проводили при помощи стереомикроскопов Olympus (Япония), «Stemi 2000-C» («Carl Zeiss», Germany), руководствуясь определителями комаров [9, 12]. Фотографии выполнены при помощи камеры Olympus C-7070 (Япония).

Исследование хромосом было проведено на метафазных клетках имагинальных дисков личинок раннего четвертого возраста. Для анализа структуры метафазных хромосом имагинальных дисков были применены методы рутинного лактоацетоорсеинового окрашивания [13]. Имагинальные диски были выделены из личинок комаров *Ae. koreicus* в фиксаторе Карнуа и окрашивались в капле лактоацетоорсеинового красителя в течение 15 мин., затем отмывались в 45% растворе уксусной кислоты [14, 15, 16]. Окрашенные имагинальные диски накрывали покровным стеклом и, слегка постукивая по нему, получали давленные препараты, которые затем анализировали с помощью светового микроскопа Zeiss Axioimager A1 (Zeiss, Германия). Хромосомы классифицировались в соответствии с классификацией McDonald и Rai 1970 [17], где хромосома 1 – является самой короткой, хромосома 2 – самой длинной и хромосома 3 является средней по длине. Длины хромосом были измерены при помощи программы ImageJ. Был вычислен центромерный индекс хромосом и их относительная длина.

Результаты

Видовой состав личинок комаров, взятых из бассейна в зоопарке, был установлен нами на основе морфологического и молекулярного анализа [18]. Анализ соотношения трех видов в данной выборке показал существенное превосходство численности *Ae. koreicus* над местными видами (табл. 1).

Таблица 1

Соотношение видов в выборках личинок комаров

	<i>Aedes koreicus</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	<i>Culex pipiens</i>
Almaty; 43°15'N 76°58' E; September 19, 2018	75.3±2.3 % n=262	21.0±2.2 % n=73	3.7±1.0 % n=13
Almaty; May 16, 2019	100 % n=51	0	0

Личинки *Ae. koreicus* из Республики Казахстан имеют типичную для этого вида морфологию. Лобные волоски на голове личинок 4 стадии *Ae. koreicus* смещены к переднему краю лобного щитка (рис. 1).

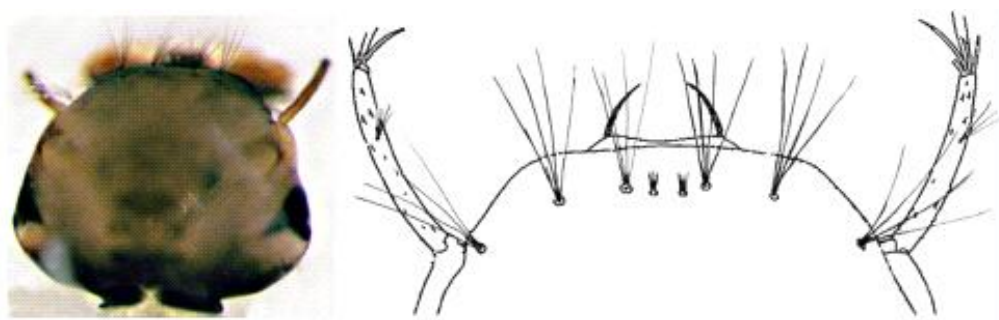
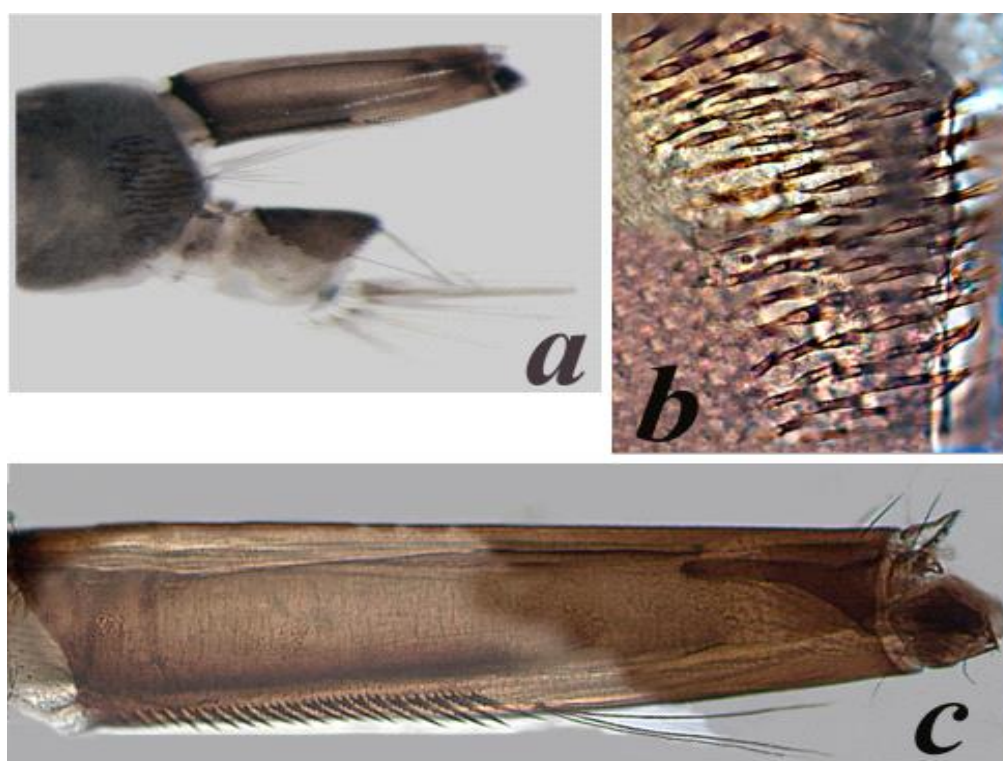


Рисунок 1. Лобные волоски на голове личинки *Ae. koreicus* IV возраста

Щетка на VIII членике брюшка из 30-72 (54) широких, веслообразных чешуек, не имеющих главного шипа (рис. 2 b). Зубцы гребня расположены на приблизительно равном расстоянии друг от друга (рис. 2 а, с) в отличие от близкого по морфологическим признакам *Ae. japonicus*, у которого наиболее дистальные зубцы гребня в числе 1-4 более широко расставлены в виде крупных шипов, лежащих под более острым углом к продольной оси трубки [9, 12]. Индекс дыхательной трубки *Ae. koreicus* в среднем 3,1. Жабры длиннее последнего членика, узкие и заострены на концах. Морфологически *Ae. koreicus* близок *Ae. japonicus*, тем более что существуют значительные внутривидовые изменения у обоих видов, что приводит к перекрывающимся морфологическим признакам [12, 19]. Поэтому нами также была проведена идентификация этого вида на основе молекулярного метода [18].



Обозначения: а – задний конец брюшка, b – чешуйки щетки, с – гребень на сифоне

Рисунок 2. Задний конец брюшка личинки *Ae. koreicus* IV возраста

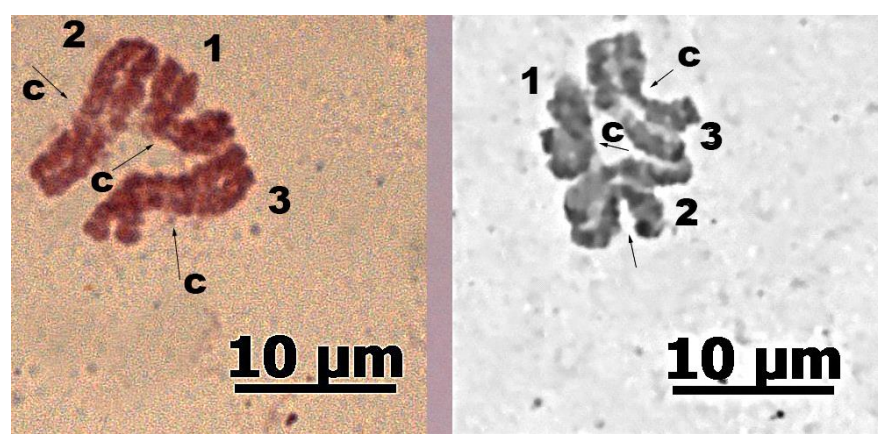
Были изучены метафазные хромосомы, полученные из имагинальных дисков личинок *Ae. koreicus*. Идентификацию хромосом проводили по соотношению плеч и размерам хромосом, в соответствии с классификацией хромосом [17]. Измерение длин хромосом и их плеч проводили при помощи программы imageJ. Центромерный индекс вычисляли по формуле: $J_c = p/(p+q)100$, где p – короткое плечо хромосомы, q – длинное плечо. Относительную длину хромосом вычисляли по формуле:

$$I_r = \frac{\text{Длина хромосомы}}{\text{Сумма длин всех хромосом}} \times 100\%,$$

где I_r – относительная длина хромосомы, выраженная в процентном эквиваленте.

С помощью программы imageJ были измерены длины всех хромосом и их плеч. В результате измерений было установлено, что центромерный индекс хромосомы 1 равен 49%, хромосомы 2 – 48% и хромосомы 3 – 49%, а относительная длина хромосомы 1 – 25%, хромосомы 2 – 39% и хромосомы 3 – 36%. Анализ значения относительных длин хромосом и центромерный индекс хромосом *Ae. koreicus*, показывают, что они соответствуют параметрам метацентрических хромосом.

С помощью лактоацетоорсеиновой окраски митотических хромосом имагинальных дисков была выявлена видоспецифичная окраска первой хромосомы, в то время как вторая и третья хромосомы имеют большую «исчерченность», что затрудняет выявление специфического бэндинга (рисунок 3). Лактоацетоорсеиновые паттерны равномерно расположились вдоль хромосомы 1, которая значительно короче хромосом 2 и 3. Хромосомы 2 и 3 при окраске лактоацетоорсеином имеют множество различных бэндов на хромосомах, что затрудняет выявление специфических маркеров, однако все три пары хромосом имеют выраженные блоки вблизи центромер.



С – центромеры метафазных хромосом имагинальных дисков;
1, 2, 3 хромосомы

Рисунок 3. Кариотип метафазных хромосом имагинальных дисков *Ae. koreicus*

Обсуждение

Комары *Ae. koreicus*, как и большинство представителей подрода *Finlaya*, встречаются в основном в населенных пунктах и развиваются в местах сбора воды в искусственных водоемах (бочки, ведра, покрышки, дуплах деревьев и т.д.) [9, 12, 20]. Самки питаются как на человеке, так и на сельскохозяйственных животных [9, 20]. Кариотип $2n=6$ характерен для всех исследованных видов кулицид. Единственное исключение — *Chagasia bathana* ($2n = 8$) подсемейства Anophelinae, который обладает тремя аутосомными парами и гетероморфной парой половых хромосом [21]. Метафазный кариотип комара *Ae. koreicus* включает три пары хромосом. Общая длина хромосом среди различных родов колеблется почти в пять раз, в пределах рода *Aedes* существует трехкратное изменение длины хромосомы [22]. Все три хромосомы *Ae. koreicus* имеют лактоацетоорсеиновые блоки в прицентромерных районах хромосом. Видоспецифичный лактоацетоорсеиновый бэндинг был изучен нами и на других видах рода *Aedes* [15, 16]. Хромосомы комаров были идентифицированы по их длине: хромосома 1 — самая короткая, хромосома 2 — самая длинная, а хромосома 3 имеет промежуточную длину по сравнению с другими хромосомами. У комаров подсемейства Culicinae, к которым относится и род *Aedes*, пол обычно определяется геном в одном локусе. Этот локус располагается в самой короткой хромосоме [23]. Соответственно, пол комаров рода *Aedes* определяется гомоморфной хромосомой 1. Изучение кариотипа *Ae. koreicus* позволит в дальнейшем использовать эти данные для исследования линейной дифференцировки и эволюции хромосом данного инвазивного вида.

Таким образом, основным вопросом остается дальнейшее распространение *Ae. koreicus* на территории Казахстана. Необходимы регулярные мониторинговые исследования фауны комаров в связи с развитием путей сообщения, расширением торговых и экономических связей, которые способствуют интродукции новых видов на территории, где они ранее не были зарегистрированы.

Заключение

В данной работе был проведен морфологический и кариотипический анализ инвазивного вида комара *Aedes koreicus*, выборки которого были сделаны на территории Республики Казахстан. Таким образом, основным вопросом остается дальнейшее распространение *Ae. koreicus* на территории Казахстана. Необходимы регулярные мониторинговые исследования фауны комаров в связи с развитием путей сообщения, расширением торговых и экономических связей, которые способствуют интродукции новых видов на территории, где они ранее не были зарегистрированы.

Авторский вклад. ЮВА и АКС выполнили идентификацию комаров и дали описание, ССА и ИЭВ провели цитогенетический анализ и участвовали в написании статьи. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Благодарности. Авторы благодарят Абылкасымову Г.М. за предоставленные выборки личинок.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 0721-2020-0019).

Список литературы

1. Medlock J.M., Hansford K.M., Versteirt V., Cull B., Kampen H., Fontenille D., Hendrickx G., Zeller H., Van Bortel W., Schaffner F. An entomological review of invasive mosquitoes in Europe // Bulletin of Entomological Research. – 2015. – 105(6). – P. 637-663.
2. Schenkel C.D., Kamber T., Schaffner F., Mathis A., Silaghi C. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the identification of invasive *Aedes* mosquito species // Medical and Veterinary Entomology. – 2019. – 33(3). – P. 345-351.
3. Versteirt V., De Clercq E.M., Fonseca D.M., Pecor J., Schaffner F., Coosemans M., Van Bortel W. Bionomics of the established exotic mosquito species *Aedes koreicus* in Belgium, Europe // Journal of Medical Entomology. – 2012. – 49(6). – P. 1226-1232.
4. Capelli G., Drago A., Martini S., Montarsi F. et al. First report in Italy of the exotic mosquito species *Aedes* (Finlaya) *koreicus*, a potential vector of arboviruses and filariae // Parasites and Vectors. – 2011. – 4 (188).
5. Безжонова О.В., Патраман И.В., Ганушкина Л.А., Вышемирский О.И., Сергиев В.П. Первая находка инвазивного вида *Aedes* (Finlaya) *koreicus* (Edwards, 1917) в Европейской части России // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 1. – С. 16-19.
6. Ganushkina L.A., Patraman I.V., Rezza G., Migliorini L., Litvinov S.K., Sergiev V.P. Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the Area of Sochi, Russia // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2016. – Vol.16. – №1. – P. 58-60.
7. Werner D., Zielke D., Kampen H. First record of *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) in Germany // Parasitology Research. – 2016. – 115(3). – P. 1331-1334.
8. Suter, T., Flacio, E., Fariña, B.F., Engeler L., Tonolla M., Müller P. First report of the invasive mosquito species *Aedes koreicus* in the Swiss-Italian border region // Parasites and Vectors. – 2015. – № 8. – P. 402.
9. Гупевич А.И., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. Комары (семейства Culicidae). – В кн: Фауна СССР. Насекомые двукрылые. – Ленинград: Наука, 1970. – 384 с.
10. Ciocchetta S., Prow N.A., Darbro J.M., Frentiu F. D., Savino S., Montarsi F., Capelli G., Aaskov J.G., Devine G.J. The new European invader *Aedes* (Finlaya) *koreicus*: a potential vector of chikungunya virus // Pathog Glob Health. – 2018. – 112(3). – P.107-114.
11. Дубицкий А.М. Кровососущие комары (Diptera: Culicidae) Казахстана. – Алма-Ата: Изд-во «Наука» Казахской ССР, 1970. – 222 с.
12. Tanaka K.K., Mizusawa K., and E.S. Saugstad. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae) // Contrib. Am. Entomol. Inst. – 1979. – №16: 1Ð 987.
13. Кабанова В.М., Карташова Н.Н. Кариотипы кровососущих комаров рода *Aedes* (Diptera, Culicidae) // Генетика. – 1972. – Т.8. – №. 3. – С. 47-51.
14. Sharakhova M.V., Timoshevskiy V.A., Yang F., Demin S.Iu., Severson D.W., Sharakhov I.V. Imaginal discs—a new source of chromosomes for genome mapping of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* // PLOS Neglected Tropical Diseases. – 2011. – 5(10). e1335.
15. Wasserlauf I.E., Alekseeva S.S., Andreeva Y.V., Sibataev A.K., Stegny V.N. A comparative analysis of the metaphase karyotypes of *Aedes excrucians*, *Ae. behningi*, and *Ae. euedes* (Diptera: Culicidae) imaginal discs // Journal of Vector Ecology. – 2018. – Vol.43. – № 2. – P. 245-251.
16. Alekseeva S.S., Andreeva Y.V., Wasserlauf I.E., Sibataev A.K., Stegny V.N. Analysis of the Metaphase Chromosome Karyotypes in Imaginal Discs of *Aedes communis*, *Ae. punctator*, *Ae. intrudens*, and *Ae. rossicus* (Diptera: Culicidae) Mosquitoes // Insects. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 63.
17. McDonald P.T., Rai K.S. Correlation of linkage groups with chromosomes in the mosquito, *Aedes aegypti* // Genetics. – 1970. – Vol. 66. – № 3. – P. 475- 485.

18. Andreeva Yu.V., Khrabrova N.V., Alekseeva S.S., Abylkassymova G.M., Simakova A.V., Sibataev A.K. First record of the invasive mosquito species *Aedes koreicus* (Diptera, Culicidae) in the Republic of Kazakhstan // *Parasite*. – 2021. – Vol. 28. – № 52. – P. 1-6.
19. Miyagi I. Notes on the *Aedes* (Finlaya) *chrysolineatus* subgroup in Japan and Korea (Diptera: Culicidae). // *Tropical Medicine*. – 1971. – Vol. 3. – №13. – P. 141-151.
20. Montarsi F., Martini S., Dal Pont M., Delai N., Ferro Milone N., Mazzucato M. Distribution and habitat characterization of the recently introduced invasive mosquito *Aedes koreicus* (*Hulecoeteomyia koreica*), a new potential vector and pest in north-eastern Italy. // *Parasites and Vectors*. – 2013. – № 6. – P. 292.
21. Kreutzer R.D. A mosquito with eight chromosomes: *Chagasia bathana* Dyar // *MosqNews*. – 1978. – № 38. – P. 554-558.
22. Rai K.S., Black IV W.C. Mosquito Genomes: Structure, Organization and Evolution // *Adv Genetics*. – 1999. – № 41. – P. 1-33
23. Gilchrist B.M. and Haldane J.B.S. Sex linkage and sex determination in a mosquito, *Culex molestus* // *Hereditas*. – 1947. – № 33. – P. 175.

A.K. Сибатаев, С.С. Алексеева, Ю.В. Андреева, И.Э. Вассерлауф
Томск мемлекеттік ұлттық зерттеу университеті, Томск, Ресей

Қазақстанда *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) қан соратын масаның инвазивті түрін зерттеу

Аңдатпа. Қазақстан Республикасына келген *Aedes koreicus* масасының инвазиялық түріне морфологиялық және кариотиптік талдау жүргізілді. Қазақстан Республикасына келген *Ae. koreicus* дернәсілдерінің осы түрге тән морфологиясы бар екені көрсетілген. 4 жастағы личинкалардың қиял дискілерінен алынған осы түрдің метафаза хромосомалары да зерттелді. Хромосомалардың лактоацетоорсеин бояуы жүргізілді, салыстырмалы ұзындықтардың мәні және *Ae. koreicus* хромосомаларының центромералық индексі есептелді. *Ae. koreicus* хромосомаларының барлық үш жұбы метацентрлік, 1 хромосома 2 және 3 хромосомаларына қарағанда едәуір қысқа және *Aedes* тұқымының басқа түрлеріндегідей гомоморфты екендігі көрсетілген.

Түйін сөздер: Қазақстан, қан соратын масалар, инвазивті түрлер, *Aedes koreicus*, метафаза хромосомалары.

A.K. Sibataev, S.S. Alekseeva, Yu.V. Andreeva, I.E. Wasserlauf
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Investigation of an invasive species of the blood-sucking mosquito *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) Kazakhstan

Abstract. The authors carried out a morphological and karyotypic analysis of an invasive species of *Aedes koreicus* mosquito from the Republic of Kazakhstan. It is shown that the larvae of *Ae. koreicus* from the Republic of Kazakhstan have a morphology typical for this species. The authors studied the Metaphase chromosomes of this species obtained from imaginal disks of larvae of the 4th age. The authors carried out Lactoacetoorsein staining of chromosomes and calculated values of relative lengths, and centromeric index of *Ae. koreicus* chromosomes. It is shown that all three pairs of *Ae. koreicus* chromosomes are metacentric, chromosome 1 is significantly shorter than chromosomes 2 and 3, and is homomorphic, as in other species of the genus *Aedes*.

Keywords: Kazakhstan, blood-sucking mosquitoes, invasive species, *Aedes koreicus*, metaphase chromosomes.

References

1. Medlock J.M., Hansford K.M., Versteirt V., Cull B., Kampen H., Fontenille D., Hendrickx G., Zeller H., Van Bortel W., Schaffner F. An entomological review of invasive mosquitoes in Europe, *Bulletin of Entomological Research*, 105(6), 637-663 (2015).
2. Schenkel C.D., Kamber T., Schaffner F., Mathis A., Silaghi C. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the identification of invasive *Aedes* mosquito species, *Medical and Veterinary Entomology*, 33(3), 345-351 (2019).
3. Versteirt V., De Clercq E.M., Fonseca D.M., Pecor J., Schaffner F., Coosemans M., Van Bortel W. Bionomics of the established exotic mosquito species *Aedes koreicus* in Belgium, Europe, *Journal of Medical Entomology*, 49(6), 1226-1232 (2012).
4. Capelli G., Drago A., Martini S., Montarsi F. et al. First report in Italy of the exotic mosquito species *Aedes* (Finlaya) *koreicus*, a potential vector of arboviruses and filariae, *Parasites and Vectors*. 4(188), (2011).
5. Bezzhonova O.V., Patraman I.V., Ganushkina L.A., Vyshemirskij O.I., Sergiev V.P. Pervaya nahodka invazivnogo vida *Aedes* (Finlaya) *koreicus* (Edwards, 1917) v Evropejskoj chasti Rossii, *Medicinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* [The first finding of the invasive species *Aedes* (Finlaya) *koreicus* (Edwards, 1917) in the European part of Russia, *Medical parasitology and parasitic diseases*]. 1, 16-19 (2014). [in Russian]
6. Ganushkina L.A., Patraman I.V., Rezza G., Migliorini L., Litvinov S.K., Sergiev V.P. Detection of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Aedes koreicus* in the Area of Sochi, Russia, *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 16(1), 58-60 (2016).
7. Werner D., Zielke D., Kampen H. First record of *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae) in Germany, *Parasitology Research*, 115(3), 1331-1334 (2016).
8. Suter T., Flacio E., Fariña B.F., Engeler L., Tonolla M., Müller P. First report of the invasive mosquito species *Aedes koreicus* in the Swiss-Italian border region, *Parasites and Vectors*, 8, 402 (2015).
9. Gucevic A.I., Monchadskij A.S., SHtakel'berg A.A. Komary (semejstva Culicidae) [Mosquitoes (family Culicidae)]. *Fauna SSSR. Nasekomye dvukrylye* [Fauna of the USSR]. (Leningrad, Nauka, 1970, 384 s.). [in Russian]
10. Ciocchetta S., Prow N.A., Darbro J.M., Frentiu F.D., Savino S., Montarsi F., Capelli G., Aaskov J.G., Devine G.J. The new European invader *Aedes* (Finlaya) *koreicus*: a potential vector of chikungunya virus, *Pathog Glob Health*, 112(3), 107-114 (2018).
11. Dubickij A.M. Krovososushchie komary (Diptera: Culicidae) Kazahstana [Blood-sucking mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Kazakhstan]. (Alma-Ata: Izd-vo «Nauka» Kazahskoj SSR, 1970, 222 s.). [in Russian]
12. Tanaka K.K., Mizusawa K., Saugstad E.S. Arevision of the adult and larval mosquitoes of Japan (in-cluding the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Is-lands) and Korea (Diptera: Culicidae), *Contrib. Am. Entomol. Inst.*, 16, 1Ð 987 (1979).
13. Kabanova V.M., Kartashova N.N. Kariotipy krovososushchih komarov roda *Aedes* (Diptera, Culicidae), *Genetika* [Karyotypes of blood-sucking mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera, Culicidae), *Genetics*]. 8(3), 47-51 (1972). [in Russian]
14. Sharakhova M.V., Timoshevskiy V.A., Yang F., Demin S.Iu., Severson D.W., Sharakhov I.V. Imaginal discs--a new source of chromosomes for genome mapping of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(10), e1335 (2011).

15. Wasserlauf I.E., Alekseeva S.S., Andreeva Y.V., Sibataev A.K., Stegny V.N. A comparative analysis of the metaphase karyotypes of *Aedes excrucians*, *Ae. behningi*, and *Ae. euedes* (Diptera: Culicidae) imaginal discs, *Journal of Vector Ecology*, 43(2), 245-251 (2018).
16. Alekseeva S.S., Andreeva Y.V., Wasserlauf I.E., Sibataev A.K., Stegny V.N. Analysis of the Metaphase Chromosome Karyotypes in Imaginal Discs of *Aedes communis*, *Ae. punctor*, *Ae. intrudens*, and *Ae. rossicus* (Diptera: Culicidae) Mosquitoes, *Insects*, 11(1), 63 (2020).
17. McDonald P.T., Rai K.S. Correlation of linkage groups with chromosomes in the mosquito, *Aedes aegypti*, *Genetics*, 66(3), 475-485 (1970).
18. Andreeva Yu.V., Khrabrova N.V., Alekseeva S.S., Abylkassymova G.M., Simakova A.V., Sibataev A.K. First record of the invasive mosquito species *Aedes koreicus* (Diptera, Culicidae) in the Republic of Kazakhstan, *Parasite*, 28(52), 1-6 (2021).
19. Miyagi I. Notes on the *Aedes* (Finlaya) *chrysolineatus* subgroup in Japan and Korea (Diptera: Culicidae), *Tropical Medicine*, 3(13), 141-151 (1971).
20. Montarsi F., Martini S., Dal Pont M., Delai N., Ferro Milone N., Mazzucato M. Distribution and habitat characterization of the recently introduced invasive mosquito *Aedes koreicus* (*Hulecoeteomyia koreica*), a new potential vector and pest in north-eastern Italy, *Parasites and Vectors*, 6, 292 (2013).
21. Kreutzer R.D. A mosquito with eight chromosomes: *Chagasia bathana* Dyar, *MosqNews*, 38, 554-558 (1978).
22. Rai K.S., Black IV W.C. Mosquito Genomes: Structure, Organization and Evolution, *Adv Genetics*, 41, 1-33 (1999).
23. Gilchrist B.M. and Haldane J.B.S. Sex linkage and sex determination in a mosquito, *Culex molestus*, *Hereditas*, 33, 75 (1947).

Сведения об авторах:

Сибатаев А.К. – доктор биологических наук, профессор кафедры сельскохозяйственной биологии Биологического института Томского государственного университета, Томск, Россия.

Алексеева С.С. – младший научный сотрудник лаборатории экологии, генетики и охраны окружающей среды Томского государственного университета, Томск, Россия.

Андреева Ю.В. – кандидат биологических наук, доцент кафедры сельскохозяйственной биологии Биологического института Томского государственного университета, Томск, Россия.

Вассерлауф И.Э. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эволюционной цитогенетики НИИ биологии и биофизики Томского государственного университета, Томск, Россия.

Sibataev A.K. – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Agricultural Biology, Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia.

Alekseeva S.S. – Junior researcher, Laboratory of Ecology, Genetics and Environmental Protection, Tomsk State University, Tomsk, Russia.

Andreeva Yu.V. – Ph.D. of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Agricultural Biology of the Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia.

Wasserlauf I.E. – Ph.D. of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Evolutionary Cytogenetics of the Research Institute of Biology and Biophysics of Tomsk State University, Tomsk, Russia.

Редакторы: **Р.І. Берсімбай**

Авторларға арналған нұсқаулықтар,
жарияланым этикасы журнал сайтында енгізілген: <http://bulbio.enu.kz/>

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің
Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы.
- 2(139)/2022 - Нұр-Сұлтан: ЕҰУ. - 132 б.
Шартты б.т. - 8,25. Таралымы - 8 дана.
Басуға қол қойылды: 28.06.2022
Ашық қолданыстағы электронды нұсқа: <http://bulbio.enu.kz>

Мазмұнына типография жауап бермейді

Редакция мекен-жайы: 010008, Қазақстан Республикасы Нұр-Сұлтан қ.,
Сәтбаев көшесі, 2.

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті
Тел.: +7(71-72) 70-95-00 (ішкі 31-428)

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің баспасында басылды