

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ
BULLETIN **ВЕСТНИК**
of L.N. Gumilyov Евразийского национального
Eurasian National University университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

№ 3(136)/2021

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, 2021

Nur-Sultan, 2021

Нур-Султан, 2021

Бас редакторы Р.І. Берсімбаи
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, проф., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан, Қазақстан
Бас редактордың орынбасары Р.Т. Омаров
PhD, б.ғ.к., профессор 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)
Масалимов Ж.К.	PhD, б.ғ.к., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан)
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: R.T. Omarov, Prof., Candidate of Biological Sciences,
PhD 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 Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Zakiyan S.M.	PhD, Prof., University of Genoa, Genoa (Italy)
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)
Massalimov Zh.K.	PhD, Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan)
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>

Главный редактор **Р.И. Берсимбай**
профессор, д.б.н., академик НАН РК, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан
Зам. главного редактора **Р.Т. Омаров**
PhD, к.б.н., профессор 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)
Масалимов Ж.К.	PhD, к.б.н., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан)
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) д.б.н.,
Рубцов Н.Б.	проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия) PhD, ЕНУ
Тагаев Д.	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

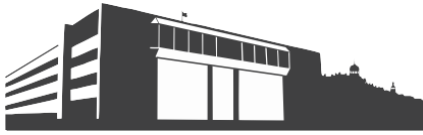
Тел.: +7(7172)709-500 (вн.31-428). Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІНІҢ
ХАБАРШЫСЫ. БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР СЕРИЯСЫ
BULLETIN OF L.N. GUMILYOV EURASIAN NATIONAL UNIVERSITY.
BIOSCIENCE SERIES
ВЕСТНИК ЕВРАЗИЙСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА
ИМЕНИ Л.Н.ГУМИЛЕВА. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

№3(136)/2021

МАЗМҰНЫ/ CONTENTS/ СОДЕРЖАНИЕ

- Джакабаев А.А., Сапаров Қ.Ә.* Іле-балқаш бассейнінде мекендейтін ондатр популяциясының морфологиялық көрсеткіштерін бағалау
Zhakabayev A.A., Saparov K.A. Assessment of the morphological parameters of the muskrat population living in the Ile-Balkhash basin
Джакабаев А.А., Сапаров К.А. Оценка морфологических показателей популяции ондатры, обитающей в Или-Балхашском бассейне 6
- Садырова Г.А., Базарбаева Т.А., Байжигитов Д.К., Жамилова С.М.* Кетпен-Темірлік жотасының шалғынды флористикалық кешенінің биоалуантүрлілігі
Sadyrova G.A., Bazarbaeva T.A., Bayzhigitov D.K., Jamilova S.M. Biodiversity of the meadow floristic complex of the ridge Ketpen-Temerlik
Садырова Г.А., Базарбаева Т.А., Байжигитов Д.К., Жамилова С.М. Биоразнообразие лугового флористического комплекса хребта Кетпен-Темерлик 13
- Абиев С.А., Дарбаева Т.Е., Сарсенова А.Н.* Батыс Қазақстан облысы микобиотасының зерттелу тарихы
Abiev S.A., Darbayeva T.E., Sarsenova A.N. The history of the study of mycobiota in the West Kazakhstan region
Абиев С.А., Дарбаева Т.Е., Сарсенова А.Н. История изучения микобиоты Западно-Казахстанской области 26
- Бұлашев А.Қ.* Тағам құрамындағы антибиотиктерді иммунобиотехнологиялық әдістермен анықтау
Bulashhev A.K. Immunobiotechnological methods for the determination of antibiotics in food
Бұлашев А.К. Иммунобиотехнологические методы определения антибиотиков в продуктах питания 35
- Берсімбай Р.И., Булгакова О.В., Арипова А.А., Каусбекова А.Ж., Токсобаева Г.А., Кусаинова А.А.* Өкпенің қатерлі ісігін диагностикалаудағы экзосомалар мен экзосомалық микроРНК рөлі
Bersimbaev R.I., Bulgakova O.V., Aripova A.A., Kausbekova A.Zh., Toksobayeva G.A., Kussainova A.A. Exosomes and the role of exosomal miRNA in the diagnosis of lung cancer
Берсімбай Р.И., Булгакова О.В., Арипова А.А., Каусбекова А.Ж., Токсобаева Г.А., Кусаинова А.А. Экзосомы и роль экзосомальной микроРНК в диагностике рака легкого 51
- Иқсат Н., Стамғалиева З., Мадиров А., Жангазин С., Омаров Р.* Вирустық ауруларға қарсы өсімдіктердің бағытталған модуляциясы үшін CRISPR/Cas геномды өңдеу технологиясының заманауи тәсілдері
Iksat N., Stamgaliyeva Z., Madirov A., Zhangazin S., Omarov R. Modern methods of CRISPR/Cas genomic editing for modulation in plants aimed at viral diseases
Иқсат Н., Стамғалиева З., Мадиров А., Жангазин С., Омаров Р. Современные методы CRISPR/Cas геномного редактирования при модуляции в растениях, направленной на вирусные заболевания 64
- Нұрбекова Ж.* Реактивті карбонил қосылыстарының өсімдікке улылығы
Nurbekova Zh. Toxicity of reactive carbonyl compounds to plants
Нұрбекова Ж. Токсичность реактивных карбонильных соединений для растений 86



Іле-балқаш бассейінде мекендейтін ондатр популяциясының морфологиялық көрсеткіштерін бағалау

Аңдатпа. Соңғы онжылдықта Қазақстанда ондатрлардың (*Ondatra zibethicus*) таралуына, санына, құрлымына зерттеулер жүргізілмеген. Ондатрдың терісі бағалы аң терісі болып табылады. Алайда, қазіргі уақытта *Ondatra zibethicus*-тың өте аз болуы, санының кеміп кетуі, Қазақстан және бірқатар елдер үшін биоалуантүрліліктің өзгеруіне алып келуде. Жұмыстың мақсаты - ондатраның тіршілік ету ортасын, Іле-Балқаш өзен-көлдерінде тіршілік ететін ондатрлардың популяциясының морфологиялық көрсеткіштерін кешенді зерттеу. Мақалада ондатр тіршілігіне зерттеулер мен ондатрдың таралуы туралы мәліметтер келтірілген, Іле-Балқаш бассейіндегі ондатрдың (*Ondatra zibethicus*) таралуы, саны, тығыздығы және қазіргі жағдайына әсер ететін себептері қарастырылды. Іле-Балқаш бассейіндегі ондатр іріктемесінің жас және жыныстық құрамы, оңтүстік Балқаштың ересек ондатр даралардың денесінің салмағы және мөлшері көрсетілген. Бастапқыда ондатр үшін табиғи жаулары, сондай-ақ ауру қоздырғыштары болмады, сондықтан ондатр саны қарқынды өсті. Ондатр көбеюі үшін аз уақыттың өзі жеткілікті. Алайда соңғы уақыттарда ондатр саны төмендеуде, өйткені ондатрдың көп аулануы, қорек құрамының өзгеруі, жыртқыш аңдардың ондатрды қорек етуі барлығы ондатр санының кемуіне алып келуде. Іле-Балқаш бассейінде ондатрлар көптеп мекендейді себебі Іле-Балқаш бассейінде көптеген көлдер, бұлақтар, өзен арналары бар, олар ондатр үшін қажетті азық-түлік қорына бай, ін салуға және қорым орнатуға ыңғайлы. Халық шаруашылығында бос жерлер мен экологиялық биотоптарды пайдалану мақсатында Қазақстанда ондатрды жерсіндіру, фаунаны өзгерту мен байытуға бағытталған әдіс болып табылады.

Түйін сөздер: Ондатр, Іле-Балқаш бассейіні, макрофит, лимит, эвтрофт.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-6-12

Кіріспе

XX ғасырдың екінші жартысы, 1935 жылы мамандар Солтүстік Америкадан Еуразия материгіне, соның ішінде Қазақстанның Сырдария, Іле-Балқаш өңірлеріне 571 ондатрды (*Ondatra zibethicus* Linnaeus, 1776) алып келді және табиғатқа жіберді. Бастапқыда ондатр үшін табиғи жаулары, ауру қоздырғыштары болмады, сондықтан ондатр саны қарқынды өсті. Ондатр көбеюі үшін аз уақыттың өзі жеткілікті. Қаз ССР ҒА-ның Зоология институтының қызметкерлері республиканың түрлі ландшафттарында ондатр биологиясына кешенді зерттеулер жүргізді. 1946 жылы қазан айында 463 ондатр Нұра, Іле-Балқаш және Кон өзендерінің бассейндеріне, 1947 жылы 311 ондатр Қорғалжын ауданының жеке көлдеріне жіберілді [1].

Ондатр терісінің тауарлық сапасы оның тозуымен анықталады, бұл қой терісінің сапасынан 45% жоғары. Ондатрдың терісі түлкінің, тиіннің, суырдың және ақкіс терісінен бағалы болып табылады. Оның терісінің ұзындығы 25-тен 35 см-ге дейін өзгереді. Кейбір аңшылар терісінің ұзындығы 40 см-ге жететін ондатрларды кездестірді.

Терісінің жүні арқа бөлігінде ұзындығы шамамен 25 мм және құрсағында 20 мм болатын жылтыр, қалың, сондай-ақ арқа бөлігінің ұзындығы шамамен 17 мм, ал құрсағында 15 мм болатын қалың мамықтан тұрады. Бір шаршы сантиметрге 8-ден 16 мың данаға дейін жүн келеді. Ондатр терісінің қалыңдығына қоршаған ортаның тигізетін әсері бар. Сол себепті Қазақстанның әр аймақтарында мекендейтін ондатрлардың терісі мен қалыңдығы әртүрлі шығады. Осыған байланысты терінің түсі қою қоңырдан, бүйірлерінде алтын реңктері бар ашық қоңырға дейін өзгереді.

Іле-Балқаш бассейнінде көптеген көлдер, бұлақтар, өзен арналары бар, олар ондатр үшін қажетті азық-түлік қорына бай және ін салуға, қорым орнатуға ыңғайлы. Халық шаруашылығында бос жерлер мен экологиялық биотоптарды пайдалану мақсатында Қазақстанда ондатрды жерсіндіру, фаунаны өзгерту мен байытуға бағытталған әдіс болып табылады. Ондатр акклиматизациясының алғашқы жетістіктері туралы мәліметтер А.Слудскийдің «Ондатра и акклиматизация ее в Казахстане» монографиясында келтірілген (1948). Қазақстан жағдайында ондатр жақсы бейімделіп, жаңа биотоптарды өз бетінше игере бастады. Акклиматизация және санның тез өсуі оның жоғары тұрақтылығын және жаңа өмір сүру жағдайларына жақсы бейімделуін көрсетеді [2].

Еуразия құрлығына ондатрды акклиматизациялау кезеңінде түрдің биотикалық және абиотикалық факторларға бейімделуі зерттелді [3].

Зерттеу әдістері мен материалдар

Зерттеу объектісі ондатр (*Ondatra zibethicus*) кәсіпшілік терісі бағалы аң. Материал Алматы облысының Балқаш ауданындағы Балқаш көлі жағасында және Іле өзенінің атырауында 2019-2020 жылдың күзгі және қысқы далалық экспедициялары кезінде жиналды (1 – сурет).



1 сурет. Дала жұмыстарын жүргізу және биоматериал жинау орны

Жұмыстың мақсаты - ондатрдың тіршілік ету ортасын, жануарлардың негізгі азық-түлік ресурстарының болуын, Іле-Балқаш бассейніндегі су режимінің жағдайын кешенді зерттеу. Ондатр санақ есебі Ю. Лобачевтің әдісімен жүргізілді (2003). Әдістемеге сәйкес су бассейнінің әртүрлі аймақтарында судың тереңдігі, жағалаулардың сипаттамасы, судың ағымы, судың көтерілу деңгейі, мұздың қалыңдығы, мұздың қатуы және еру уақыты, судың төмендеу деңгейі

анықталды. Өзен жағасында өсімдік жамылғысы, олардың түрлері, су бассейнінің пайдалы ауданы, сондай-ақ ондатр мекендейтін жерлер анықталды. "Google maps" бағдарламасының көмегімен су бассейнінің ұзындығы, ондағы су өсімдіктерінің өсу ауданы анықталды [4].

Ондатрдың тіршілік ету ортасының есебі мен экологиялық жағдайы бинокльдің көмегімен жүргізілді, жануарлардың тіршілік ету ортасының суреттері алынды, барлық жиналған материалдар дәптерге енгізілді. Ондатрдың бір тобыры су бассейнінің белгілі бір бөлігін мекендейді және басқа ондатрларды өз территориясына жақындатпайтыны анықталды.

Бір інде мекендейтін ондатрлардың орташа мөлшерін анықтау үшін суқойманың әр зерттелген аймағында 5 ін таңдалды және інде мекендеген барлық ондатрлар ауланды. Ауланған ондатр саны жалпы індердің санына бөлінді. Әр түрлі типтегі су бассейндерінде олардың әрқайсысындағы ондатрдың орташа саны анықталды. Сол әдістеме бойынша ондатрдың көбею жылдамдығы, жас жануарлардың өмірлік белсенділігі және ондатр популяцияларының жастық-жыныстық құрамының сипаттамасы анықталды. Жануарларды аулау арнайы аулардың көмегімен жүргізілді [5, 6].

Ондатрдың аталық дарасының жынысын анализ тесігі жанында орналасқан жыныс мүшесінің болуымен, сондай-ақ аналықтарын сүт бездерінің болуымен анықтауға болады [7].

Өзен жағасында орналасқан ондатр қорымдарын есепке алу кезінде есептеушілердің бірі жағалау бойынша, ал екіншісі қайықпен өтуі тиіс және ін жақсы көрінетін жолдарға назар аударуы тиіс. Осы есептің негізінде ондатр саны анықталады (2 – сурет).

Көлдегі індер бойынша ондатрларды есепке алу Балқаш көлінің 2019 жылдың қазан айының ортасында жағалау жолағында макрофиттердің таралуына және көлдің басқа да ерекшеліктеріне байланысты тоғандағы жануарлардың таралуы біркелкі емес екенін көрсетті. Тығыздығы жоғары (жағалау сызығының 1 км-ге 20 тобыры), ондатр су қоймасының оңтүстік батыс бөлігін мекендейді, онда су өсімдіктерінің жабындысы ені 50 м (орташа – 25 м) жетеді. Суқойманың солтүстік батыс бөлігіндегі ондатр саны әдеқайда төмен (1 км – ге 5,0 тобыры), сонымен қатар макрофит жабындысы ені (35 м-ге дейін, орташа-15 м). Қорымдар жағалау бойымен біркелкі бөлінген көлдің батыс жағалауынан айырмашылығы, солтүстік бөлігінде олардың таралуының ерекшелігін байқадық - қорымдар топтары (2-5) бір – бірінен 300-400 м қашықтықта.



2 сурет. Ондатрдың қорымдарының қысқы орналасу жағдайы (2020 ж.)

Балқаш көлінің шығыс жағалауында макрофиттердің жабындысы және ондатр қоныстары жоқ. Биылғы жылы көлдің оңтүстік жағалауында жүргізілген зерттеулерде көлдің солтүстік бөлігіне қарағанда қорымдардың саны көп (шамамен 20). Жалпы алғанда ондатрға қолайлы мекендеу орындарындағы ондатр саны жағалау сызығының 1 км-ге 21,3 тобырын құрады.

2019 жылдың күзінде ондатр қорымдарының саны 2020 жылдың күзімен аң аулау маусымымен салыстырғанда өте төмен деңгейде болды. Балқаш көліндегі түрлер санының күрт төмендеу себептері браконьерлік, яғни жергілікті заңдарды бұза отырып, жануарлар дүниесін заңсыз алу. Құрғақ аязды жылдары қыста су қоймаларының қатып қалуының ең жағымсыз салдары тереңдігі таяз көлдерде макрофиттерге кері әсері байқалатыны белгілі (Лавров, 1947). Кейінгі жылдары жауын-шашын мен ауа температурасының нормасынан әртүрлі ауытқулармен ерекшеленді. Сонымен, 2016 жылдың маусым-тамыз айларында Оңтүстік Балқаш көлінде тәулігіне 60 см-ге дейін қарқындылықпен су деңгейінің көтерілуі байқалды (Бехтерева және т.б., 2017), Мұның бәрі, тіпті 2014 жылдан бастап балық аулау болмаған кезде де, су қоймасындағы түрлер санының азаюына және 2019 жылға қарай оның салыстырмалы түрде баяу өсуіне себеп болған. Ондатр санының мұндай айырмашылықтары Финляндияның көлдерінде де байқалады (Numi et al., 2006), мұнда бір су қоймасындағы қорымдардың саны 2-5 есе өзгеруіне алып келуі мүмкін.

Нәтижелер мен талқылаулар

Ондатрды кәсіптік түрде аулау ондатрдың өмір сүруінің оңтайлы және қолайсыз жағдайларында әсер етеді, ең алдымен ересектер түрлеріне оның ішінде негізінен аталық дараларына әсер етеді (Ширяев, 2012). 2019 жылдың қазан айында Балқаш көлінің оңтүстік батысында үш күн бойы ондатрды аулау нәтижесі бойынша барлық жас топтарында аталық даралар басым, ал аналық даралар саны аз болды (1 – кесте).

1 кесте

Балқаш көліндегі ондатр (*Ondatra zibethicus*) іріктемесінің жас және жыныстық құрамы

Жас топтары	Жынысы		Барлығы
	Аталық (♂)	Аналық (♀)	
Ересек особь (n=21)	57,14%	42,85%	61,76%
Жас особь (n=13)	61,53%	38,46%	38,23%
Барлығы (n=34)	58,82%	41,17%	100,0%

Әдетте, ондатрды ұзақ уақыт аулау кезінде, жас особьтар үлесі әлдеқайда жоғары болады, бұл Балқаш көлінде және басқа аймақтарда байқалды. Ересек жануарлардың өлшемдері (2 – кесте) бұрын берілген (Слудский А.А., 1948) көрсеткіштерге сәйкес келеді және орташа мәндерінде айтарлықтай айырмашылық байқалмады. Уилкоксоманн-Уитни критерийі бойынша ересек ондатрлардың көрсеткіштерін салыстыру зерттелген үлгідегі аталықтар мен аналықтар арасында айтарлықтай айырмашылықтардың жоқтығын көрсетті. Зерттелген материалдар бойынша, ондатрлардың жыныстық диморфизмі толығымен байқалды.

Оңтүстік Балқаш көліндегі ересек ондатр даралардың денесінің салмағы (г) және мөлшері (мм)

Көрсеткіштер	Аталық (n=20)	Аналық (n=14)
Дене салмағы	$\frac{720,0 - 1340,0}{1004,6 \pm 33,3}$	$\frac{720,0 - 1340,0}{957,1 \pm 59,0}$
Дене ұзындығы	$\frac{256,0 - 342,0}{295,5 \pm 3,5}$	$\frac{262,0 - 318,0}{291,1 \pm 5,4}$
Артқы аяқтың ұзындығы	$\frac{66,0 - 75,0}{70,0 \pm 0,4}$	$\frac{66,0 - 76,0}{70,1 \pm 0,7}$
Құйрық ұзындығы	$\frac{219,0 - 267,0}{233,6 \pm 2,0}$	$\frac{206,0 - 265,0}{234,4 \pm 4,2}$
Құлақ биіктігі	$\frac{19,0 - 25,0}{21,6 \pm 0,2}$	$\frac{18,0 - 24,0}{21,5 \pm 0,5}$

Қорытынды

Біздің зерттеу нәтижелері көрсеткендей, ондатр (*Ondatra zibethicus*) ареалы Балқаш көлінің оңтүстік-батыс бөлігінің эвтрофты бөлігі түрдің жоғары өнімді тіршілік ету ортасы болып қала береді. Бірақ оларды лимиттен артық аулау, браконьерлік аулау ондатрдың популяциясының төмендеуіне алып келеді. Бұл жағдайдың салдары су объектілерінің макрофиттерінің жағдайына да, ондатр популяциясының өзіне де теріс әсер етуі мүмкін. Сонымен қатар, Іле-Балқаш су бассейінде бұл факторлар биоалуантүрліліктің салыстырмалы түрде ондатр популяция санының азаюына ықпал еткені көрсетілген.

Алынған материалдар Қазақстандағы ондатрдың жерсіндіру кезіндегі ондатр популяциясындағы эволюциялық – экологиялық үдерістерді зерттеу бойынша ауқымды зерттеулер жүргізген Слудский А.А., Васильев А. Г. деректеріне сәйкес келеді.

Әдебиеттер тізімі

1. Слудский А.А. Ондатра и акклиматизация ее в Казахстане. -Алма-Ата: Издательство Академии наук Казахской ССР. -1948. -182 с.
2. Васильев А.Г., Большаков В. Н., Малафеев Ю.М., Валяева Е.А. Эволюционно – экологические процессы в популяциях ондатры при акклиматизации в условиях Севера // Экология. -Москва, -1999. 433-441 с.
3. Vasil'ev A. G., Bol'shakov V.N., Sineva N.V. Long term morphogenetic aftereffects of muskrat acclimatization in western Siberia// Biological Sciences. -2014. -Vol. 455, No. 1. -p. 113-115.
4. Бекенов А.Б., Лобачев Ю.С., Лобачева В.В. Ондатра. -Алма-Ата: Кайнар. -1989. -163 с.
5. Лобачев Ю.С. Методы учета основных охотничье - промысловых и редких животных Казахстана. -Алматы: Институт зоологии МОН РК, 2003. -203 с.
6. Ильина Е.Д., Соболев А.Д., Чекалова Т.М., Шумилина Н.Н. Звероводство. -Москва, Краснодар, Лань. 2004. - 304 с.
7. Дивеева Г.М., Кучерова Э.В., Юдин В.К. Учебная книга зверовода. Учебник для средн. сел. проф. училищ, 2-е изд. Москва: Агропромиздат. -1985. -415 с.

А.А. Джакабаев, К.А. Сапаров

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

Оценка морфологических показателей популяции ондатры, обитающей в Или-Балхашском бассейне

Аннотация. За последнее десятилетие в Казахстане не проводилось исследований распространения, численности, строения ондатр (*Ondatra zibethicus*). Ондатра обладает ценным мехом. Однако в настоящее время очень небольшое количество *Ondatra zibethicus*, уменьшение численности, приводят к изменению биоразнообразия в Казахстане и ряде стран. Цель работы - комплексное изучение среды обитания ондатры, морфологических показателей популяций ондатр, обитающих в реках-озерах Или-Балхаш. В статье представлены исследования жизни ондатры и данные о ее распространении, рассмотрены причины, влияющие на распространение, численность, плотность и современное состояние ондатры (*Ondatra zibethicus*) в системе Иле-Балхашского бассейна. Показаны возрастной и половой состав выборки ондатры в системе Иле-Балхашского бассейна, масса тела и размеры взрослых особей ондатры Южного Балхаша. Изначально у ондатры не было естественных врагов, а также возбудителей болезней, поэтому численность ондатры стремительно росла. Для ондатры достаточно небольшого количества времени. Однако в последнее время численность ондатры снижается вследствие большого улова ондатр, изменения состава их корма, также они служат источником питания для хищных животных. В Иле-Балхашском бассейне обитает большое количество ондатр, т. к. здесь имеется множество озер, ручьев, русел рек, которые богаты необходимыми для ондатры запасами продовольствия и удобны для строительства и устройства некрополя. Акклиматизация ондатры, в целях использования свободных земель и экологических биотопов в народном хозяйстве в Казахстане, является методом, направленным на изменение и обогащение фауны.

Ключевые слова: ондатра, Или-Балхашский бассейн, макрофит, лимит, эвтроф.

A.A. Zhakabayev, K.A. Saparov

Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

Assessment of the morphological parameters of the muskrat population living in the Ili-Balkhash basin

Abstract. Over the past decade, no studies have been conducted on the distribution, number, and structure of muskrats (*ondatra zibethicus*) in Kazakhstan. Muskrat fur is a valuable fur. However, at present, the very small number of *ondatra zibethicus*, the decline in its population, leads to changes in biodiversity for Kazakhstan and a number of countries. The purpose of the work is a comprehensive study of the habitat of muskrats, morphological indicators of the population of muskrats living in the Ili - Balkhash rivers and lakes. The article provides data on studies of the life of muskrats and the distribution of muskrats, considers the distribution, number, density and reasons that affect the current state of the muskrats (*ondatra zibethicus*) in the system of the Ili-Balkhash basins. The age and sex composition of the Muskrat selection in the Ili-Balkhash basin system, body weight and size of adult muskrats of Southern Balkhash are indicated. Initially, the Muskrat had no natural enemies, as well as pathogens, so the number of muskrats increased intensively. For muskrats to reproduce, a small amount of time is enough. However, recently, the number of muskrats has been declining, as the large number of muskrats, changes in the composition of food, and the feeding of muskrats by predatory animals have led to a decrease in the number of muskrats. The Ili-Balkhash Basin is home to a large number of muskrats, because in the Ili-Balkhash Basin there are many lakes, streams, riverbeds, which are rich in

the necessary food reserves for muskrats and are convenient for the construction of Burrows and burial grounds. Acclimatization of muskrats in Kazakhstan to use free land and ecological biotopes in the national economy is a method aimed at changing and enriching the fauna.

Keywords: Muskrat, Ili-Balkhash Basin, macrophyte, limiter, eutroft.

References

1. Sludskij A.A. Ondatra i akklimatizaciya ee v Kazahstane [Muskrat and its acclimatization in Kazakhstan]. Izdatel'stvo Akademii nauk Kazahskoj SSR, Alma-Ata, 1948, 182 s. [in Russian].
2. Vasil'ev A.G., Bol'shakov V. N., Malafeev YU.M., Valyaeva E.A. Evolyucionno – ekologicheskie processy v populyacijah ondatry pri akklimatizacii v usloviyah Severa [Evolutionary and ecological processes in muskrat populations during acclimatization in the conditions of the North]. Ekologiya [Ecology]. Moskva, 1999, 433-441 s. [in Russian].
3. Vasil'ev A.G., Bol'shakov V.N., Sineva N.V. Long term morphogenetic aftereffects of muskrat acclimatization in western Siberia. Biological Sciences. 455(1), 113-115 (2014).
4. Bekenov A.B., Lobachev Yu.S., Lobacheva V.V. Ondatra. Kajnar, Alma-Ata, 1989, 163 s. [in Russian].
5. Lobachev YU.S. Metody ucheta osnovnyh ohotnich'e - promyslovyh i redkih zhivotnyh Kazahstana [Methods of accounting for the main hunting and commercial and rare animals of Kazakhstan]. Almaty: Institut zoologii MON RK, 2003. 203 s. [in Russian].
6. Il'ina E.D., Sobolev A.D., CHEkalova T.M., SHumilina N.N. Zverovodstvo [Fur farming]. - Moskva, Krasnodar, Lan', 2004, 304 s. [in Russian].
7. Diveeva G.M., Kucherova E.V., YUdin V.K. Uchebnaya kniga zverovoda [Educational book of zverevod]. Uchebnik dlya sredn. sel. prof. uchilishch. [Textbook for secondary. rural. vocational schools], 2-e izd. Agropromizdat, Moskva, 1985, 415 s. [in Russian].

Авторлар туралы мәлімет:

Джакабаев Акылбек Атабекұлы - 2 курс магистранты, Әл-Фараби атындағы қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан.

Сапаров Қуандық Әбенұлы - биология ғылымдарының докторы, профессор, Әл-Фараби атындағы қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан.

Dzhakabaev Akylbek Atabekovich -The 2nd year Master's student, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan.

Saparov Kuandyk Abenovich -Doctor of Biological Sciences, Professor, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan.

Г.А. Садырова^{1*}, Т.А. Базарбаева¹, Д.К. Байжигитов², С.М. Жамилова²

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

² Казахский национальный педагогический университет имени Абая, Алматы, Казахстан

*Автор для корреспонденции: gulbanu-s@mail.ru

Биоразнообразие лугового флористического комплекса хребта Кетпен-Темерлик

Аннотация. В данной статье приводятся результаты многолетних исследований луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик в пределах Казахстана и Китая. В работе представлен анализ лугового флористического комплекса хребта Кетпен-Темерлик. Выявлено таксономическое разнообразие видового состава лугового флористического комплекса, проведен биоморфологический анализ жизненных форм луговых видов, определена принадлежность луговых видов к различным географическим типам ареалов. Детальный флористический анализ луговой флоры позволил выявить 624 вида сосудистых растений, относящихся к 230 родам и 47 семействам. По главнейшим систематическим группам растений луговая флора представлена отделом Magnoliophyta, на долю которого приходится 82,2% всего видового состава, и лишь незначительный процент - на отдел Liliopsida 17,1%. Соотношение однодольных и двудольных растений в луговой флоре составляет 1:4,8. Общее количество однодольных охватывает 107 видов или 17,1% от общего числа видов, двудольных растений насчитывается 517 видов или 82,2%. Анализ крупнейших семейств луговой флоры позволил выделить 16 крупнейших семейств по наибольшему числу видов, которые содержат в своем составе 504 видов. Анализ видового богатства родов луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик, показал, что из 230 родов крупными (10 и более видов) являются 8 родов. Полиморфными родами флоры являются: *Potentilla*, *Carex*, *Ranunculus*, *Taraxacum*, *Astragalus*, *Silene*, *Veronica*. На ведущие рода луговой флоры приходится 25,1%. На основе проведенного анализа показан бореальный характер луговой флоры, выявлено большое присутствие среди луговой флоры Кетпен-Темерлик горносреднеазиатских видов, имеющих ареал, ограниченный территориями Горной Средней Азии.

Ключевые слова: биоразнообразие, флора, хребет Кетпен-Темерлик, флористический комплекс.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-13-25

Введение

Изучение флор горных территорий в последнее время представляет большой научный интерес [1,2,3,4,5,6,7,8]. Особенно актуально изучение флоры отдельных, малоизученных регионов, расположенных в районах пустынной зоны. Одним из таких регионов Северного Тянь-Шаня является хребет Кетпен-Темерлик.

Исследуемый хребет Кетпен-Темерлик представляет собой горную страну, четко очерченную в географическом и историческом отношениях, имеет довольно богатую флору, отличную от других смежных регионов с концентрацией реликтовых элементов различных времен, различного генезиса и различной истории.

По физико-географическому районированию Казахстана хребет Кетпен относится к Среднеазиатской стране, Тянь-Шаньской области, Северо-Тяньшаньской провинции, Чилик-Кетпенскому округу и двум районам: району северного склона хребта Кетпен и Кегень-Текесскому району [9].

Хребет Кетпен-Темерлик расположен на территории двух государств – Казахстана и

Китая. Восточная его часть, находящаяся на территории Казахстана, носит название Кетпен; западная часть на территории Китая называется Темерлик. Изучение отдельных природных регионов приобретает особую актуальность и в связи с чрезмерной и длительной эксплуатацией горных пастбищ, приводящей в ряде случаев к необратимым изменениям первозданных биоценозов, сокращению ареалов и исчезновению редких видов растений. Для сохранения и рационального использования растительного богатства того или иного района крайне важно выявление, по возможности, полного состава его флоры.

По результатам проведенных многолетних флористических исследований на территории хребта Кетпен-Темерлик в пределах Казахстана и Китая, нами выделяются следующие типы высотной ландшафтной растительности: пустынный, пустынно-степной, лугово-лесной, лиственно-лесной хвойно-лесной, криофильно-луговой, кустарниковый. Выделение их как флористических комплексов является закономерным, так как они являются зональными для хребта Кетпен-Темерлик, растительный покров которого отличается комплексностью и мозаичностью, т.е. ему присуща гетерогенность исследуемой флоры. Представленные выше флористические комплексы природной флоры хребта Кетпен-Темерлик объединяют виды, тяготеющие по своим эколого-ценотическим признакам и характеру распространения к однородным в ботанико-географическом отношении природным территориальным комплексам (ландшафтам).

Луговой флористический комплекс хорошо развит на исследуемой территории хребта Кетпен-Темерлик, он широко представлен в верхнем и среднем поясах, где луговая растительность особенно богата и разнообразна, и в речных долинах подгорных равнин хребта Кетпен-Темерлик. Этот флористический комплекс включает ряд семейств, представители которых связаны исключительно с луговыми местообитаниями (рис. 1).



Рисунок 1. Луговая растительность хребта Кетпен-Темерлик

Цель данной статьи – всесторонний анализ лугового флористического комплекса на территории хребта Кетпен-Темерлик.

Были поставлены следующие задачи: провести таксономический, биоморфологический, географический анализ лугового флористического комплекса хребта Кетпен-Темерлик.

Первые ботанические исследования на Северном Тянь-Шане были проведены в XIX веке российскими учеными исследователями: А.И. Шренк (1840-1842), П.П. Семенов (1856-1859), А.Н. Северцев (1864-1868), Э. Регель, А.М. Фетисов (1876 – 1885), А.Н. Краснов (1886-1889), В.В. Сапожников (1902-1904). В 30-е годы XX столетия (советский период) на Северном Тянь-Шане работали Р.И. Аболин (1925-1926), Л.Е. Родин (1930-1933), Н.И. Рубцов (1945-1949). В 50-80-х годах прошлого века в различных районах Северного Тянь-Шаня, в том числе и на хребте Кетпен, проводили флористические сборы Н.И. Рубцов, В.П. Михайлова, В.В. Фисюн, И.И. Ролдугин, С.А. Арыстангадиев, З.В. Кубанская, В.П. Голоскоков, С.А. Абдулина и другие.

В 2003-2017 гг. исследования флоры хребта Кетпен-Темерлик в пределах Казахстана и Китая проводились Г.А. Садыровой.

Методы проведения исследования

Объект исследования: хребет Кетпен-Темерлик. Предмет исследования: луговая флора и растительность хребта Кетпен-Темерлик. Основными методами исследования лугового флористического комплекса хребта Кетпен-Темерлик были общепринятые классические методики ботанических и флористических исследований и традиционные методы геоботанических исследований: в полевых условиях использовался традиционный маршрутно-рекогносцировочный метод. Сбор и обработка гербарного материала проводились по общепринятой методике. Экземпляры видов луговых растений собирались в гербарные папки с описанием мест сбора, даты и коллектора. В точках, фиксированных на местности прибором GPS, проводилось детальное геоботаническое описание присутствующих растительных сообществ. Камеральная обработка, идентификация видов проводились в лаборатории: после полевых работ материал подвергался дополнительной сушке и просмотру с помощью бинокулярных луп и распределен по систематическим группам. Сбор и обработка гербарного материала были проведены по общепринятой методике А.К. Скворцова [10]. В процессе определения гербария в качестве источников были использованы многотомные сводки: «Флора СССР» [11], «Деревья и кустарники СССР» [12], «Флора Казахстана» [13], «Деревья и кустарники Казахстана» [14], «Растения Центральной Азии» [15], «Определитель растений Средней Азии» [16], «Иллюстрированный определитель растений Казахстана» [17]. Для уточнения видовых и родовых названий были использованы последние сводки С.К. Черепанова [18], С.А. Абдулиной [19], А.Л. Тахтаджяна [20]. Типы ареалов исследуемых видов растений нами выделены согласно классификациям, разработанным Е.П. Лавренко, А.И. Толмачевым, Р.В. Камелиным, В.П. Голоскоковым [21,22,23,24,25].

Результаты и их обсуждение

Таксономический анализ. Общее количество видов, зарегистрированных в луговом флористическом комплексе (ДФК), - 624 вида. Они относятся к 230 родам и 47 семействам. Двудольных насчитывается 517 видов, однодольных - 107 видов. Соотношение однодольных к двудольным составляет 1:4,8. Численное соотношение флоры: 47:230:624. В среднем на каждый род приходится по 2,7 вида. Видовая насыщенность семейств лугово-лесной флоры характеризуется средним показателем и составляет 13,2.

Автохтонные тенденции в развитии луговой флоры исследуемого хребта не выражены, о чем говорит отсутствие эндемичных видов. Почти полное отсутствие полиморфных родов, а также отрицательное значение показателя автономности (-0,592), свидетельствуют о значительной аллохтонной тенденции в развитии луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик.

Распределение надсемейственных таксонов по количеству видов и родов приведено по А.Л. Тахтаджяну [20]. Флористический спектр луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик состоит из восьми подклассов, из них два подкласса (*Commeliniidae*, *Liliidae*) относятся к *Liliopsida* и шесть подклассов (*Ranunculidae*, *Caryophyllidae*, *Rosidae*, *Lamiidae*, *Dilleniidae*, *Asteridae*) к *Magnoliopsida*. Из класса *Magnoliopsida* наиболее богатыми по видовому составу оказались подклассы *Rosidae*, *Asteridae*, *Lamiidae*, *Caryophyllidae*, *Dilleniidae*, *Ranunculidae*, а из класса *Liliopsida* таковыми оказались *Commeliniidae* и *Liliidae* (рис.2).

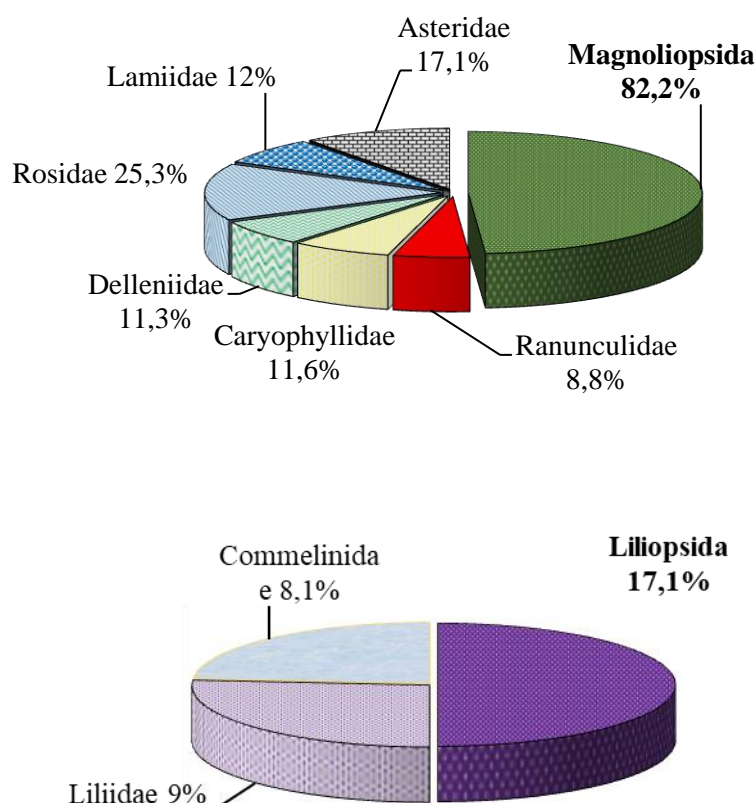


Рисунок 2. Соотношение основных систематических групп в луговом флористическом комплексе

Из приведенных в таблице 1 семейств луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик ведущими по числу видов оказались семейства: *Asteraceae* (81; 13,0%), *Fabaceae* (58; 10,0%), *Poaceae* (51; 8,17%), *Caryophyllaceae* (48; 7,6%), *Ranunculaceae* (42; 6,7%), *Brassicaceae* (39; 6,25%), *Rosaceae* (39; 6,25%), *Cyperaceae* (31; 5,0%), *Scrophulariaceae* (25; 4,0%), *Lamiaceae* (22; 3,52%), *Apiaceae* (22; 3,52%), *Polygonaceae* (19; 3,0%).

Таблица 1
Крупнейшие семейства луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик

Семейства	Количество родов	Количество видов	% от общего числа видов
1. <i>Asteraceae</i>	30	81	13,0
2. <i>Fabaceae</i>	17	58	10,0
3. <i>Poaceae</i>	15	51	8,17
4. <i>Caryophyllaceae</i>	14	48	7,6
5. <i>Ranunculaceae</i>	10	42	6,7
6-7. <i>Brassicaceae</i>	23	39	6,25
6-7. <i>Rosaceae</i>	9	39	6,25
8. <i>Cyperaceae</i>	8	31	5,0
9. <i>Scrophulariaceae</i>	8	25	4,0

10-11. <i>Lamiaceae</i>	14	22	3,52
10-11. <i>Apiaceae</i>	15	22	3,52
12. <i>Polygonaceae</i>	6	19	3,0
13-14. <i>Alliaceae</i>	1	9	1,44
13-14. <i>Euphorbiaceae</i>	1	9	1,44
13-14. <i>Orchidaceae</i>	6	9	1,44
Всего:	177	504	81,0

В первых трех семействах содержится 190 видов или 30,4%, а в двенадцати ведущих семействах 477 видов или 76,4% (рис. 3). Двенадцать семейств включают от 9 до 6 видов (89; 14,2%); в четырнадцати семействах содержится от 5 до 2 видов (45; 7,2%); по одному виду (0,96%) содержат шесть семейств (*Paraveraceae*, *Thymelaceae*, *Saxifragaceae*, *Rutaceae*, *Melanthaceae*, *Asphodelaceae*) (таблица 1).

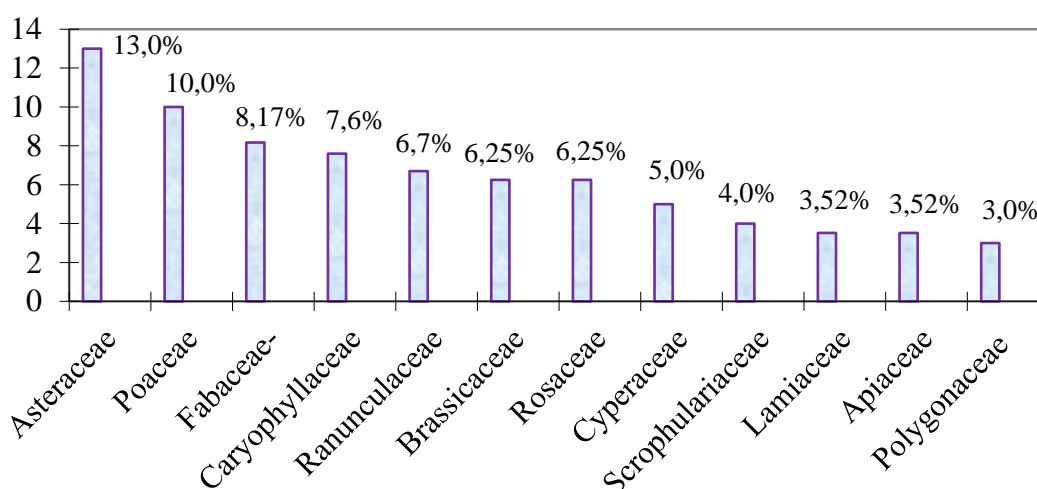


Рисунок 3. Соотношение ведущих семейств луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик

Ведущими по числу родов семействами (таблица 1) оказались: *Asteraceae* (30; 4,8%), *Brassicaceae* (23; 3,6%), *Fabaceae* (17; 2,7%), *Poaceae* (15; 2,4%), *Apiaceae* (15; 2,4%), *Caryophyllaceae* (14; 2,4%), *Lamiaceae* (14; 2,4%), *Rosaceae* (9; 1,44%), *Cyperaceae* (8; 1,28%), *Scrophulariaceae* (8; 1,28%), *Polygonaceae* (6; 0,96%), *Orchidaceae* (6; 0,96%).

Таблица 2

Крупнейшие роды луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик

Роды	Количество видов	% от общего числа видов
1. <i>Potentilla</i>	22	3,5
2. <i>Carex</i>	18	2,88
3-4. <i>Ranunculus</i>	14	2,24
3-4. <i>Taraxacum</i>	14	2,24
5. <i>Astragalus</i>	16	2,56
6. <i>Silene</i>	11	1,76
7-8. <i>Veronica</i>	10	1,60
7-8. <i>Artemisia</i>	10	1,60

9-10. <i>Rumex</i>	9	1,44
9-10. <i>Euphorbia</i>	9	1,44
11-12. <i>Cerastium</i>	8	1,28
11-12. <i>Poa</i>	8	1,28
11-12. <i>Allium</i>	8	1,28
Всего:	157	25,1

Из таблицы 2 видно, что крупнейшими родами с наиболее богатыми видами, оказались: *Potentilla* (22 вида; 3,5%), *Carex* (18; 2,8%), *Astragalus* (16; 2,24%), *Ranunculus* (14; 2,24%), *Taraxacum* (14; 2,24%), *Silene* (11; 1,76%), *Artemisia* (10; 1,60%), *Veronica* (10; 1,60%). *Rumex* (9; 1,4%), *Euphorbia* (9; 1,4%). В этих десяти родах содержится 133 вида (21,3%). Роды *Cerastium*, *Poa*, *Allium* содержат по 8 видов каждый; роды *Delphinium*, *Hieracium*, *Galium*, *Geranium* – по 7 видов каждый; роды *Minuartia*, *Viola*, *Lepidium*, *Medicago*, *Plantago*, *Galatella*, *Senecio*, *Scorzonera*, *Elymus*, *Epilobium*, *Hedysarum* – по 6 видов каждый. 82 рода, не вошедших в таблицу, содержат от 5 до 2 видов (245; 39,2%); 120 родов – по 1 виду (19,2%) (рис. 4).

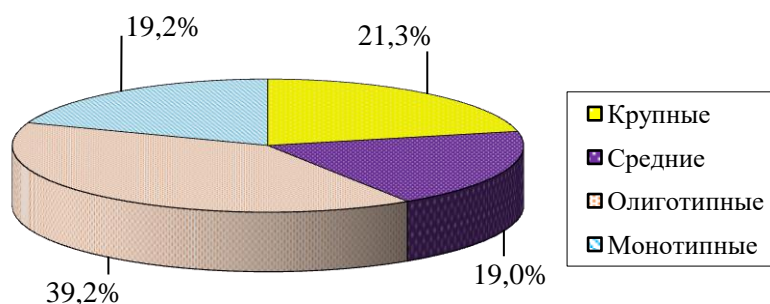


Рисунок 4. Соотношение крупных, средних, олиготипных и монотипных родов луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик

Характерных только для лугового флористического комплекса верных видов насчитывается 125. К основным верным видам относятся: *Alopecurus pratensis*, *Alchemilla sibirica*, *A. krylovii*, *Dactylis glomerata*, *Brachipodium pinnatum*, *Elytrigia repens*, *Phleum phleoides*, *Poa pratensis*, *Helictotrichon pubescens*, *Phlomis oreophylla*, *Koeleria cristata*, *Ligularia macrophylla*, *Geranium collinum*, *Bistorta nitens*, *Anemone narcissiflora*, *Veronica spicata*, *Thalictrum minus*, *Trisetum altaicum*, *T. spicatum*, *Anthoxanthum odoratum* и другие.

Биоморфологический анализ. Анализ биоморф показал, что жизненные формы луговой флоры характеризуются доминированием травянистых растений (609 видов или 97,5%), из них подавляющее число видов относится к травянистым поликарпикам (494 видов или 79,1%), что характерно для умеренных флор. Травянистые монокарпики играют меньшую роль в сложении флоры (115 видов; 18,4%) (рис. 5). Доля участия кустарников и кустарничков (10 видов; 1,6%), полукустарников и полукустарничков (0,80%) невелика. Кустарники представлены в семействах розоцветных (3 вида), лютиковых (3), барбарисовых (2), крестоцветных (1), бобовых (2), рутовых (1). Полукустарники содержатся в семействах губоцветных (1 вид), сложноцветных (1), розоцветных (1). Из поликарпиков стержнекорневых насчитывается 128 видов, или 20,5%), корневищных – 76 видов, или 12,1%, короткокорневищных – 115 видов, или 18,4%, длиннокорневищных – 71 вид, или 11,3%, дерновинных – 30 видов, или 4,8%, клубневых – 17 видов, или 2,7%, луковых – 7 видов, или 1,12%.

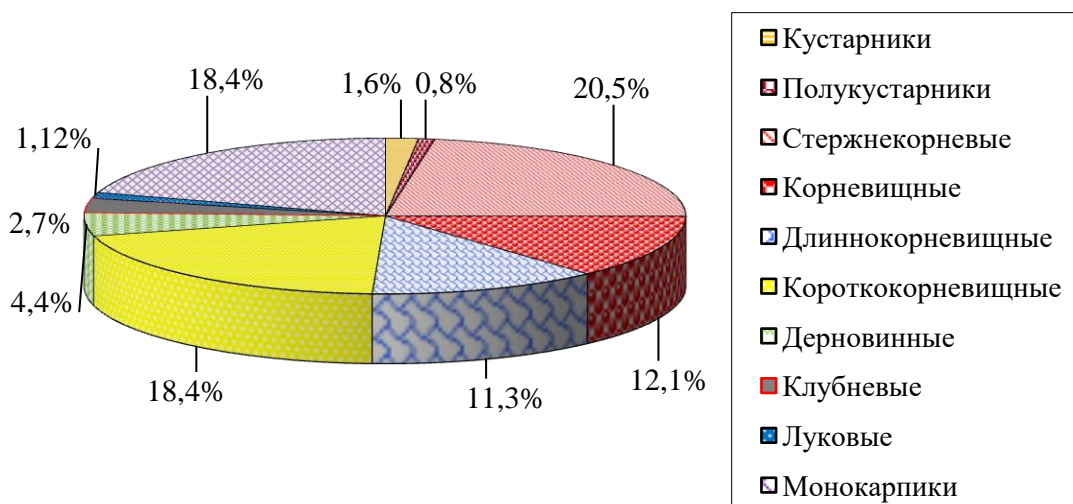


Рисунок 5. Распределение жизненных форм луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик

Однолетники преобладают в семействах сложноцветных (21 вид), злаковых (8), горечавковых (3), норичниковых (9), гвоздичных (17), первоцветных (2), подорожниковых (3), бобовых (5), бальзаминовых (3), гераниевых (2), ворсянковых (2), дымянковых (2), крестоцветных (28), гречишных (5). Многолетники доминируют в семействах сложноцветных (77 видов), бобовых (50 видов), осоковых (29), мятликовых (30), розоцветных (32), лютиковых (26), крестоцветных (16), губоцветных (19), гвоздичных (23), зонтичных (19), норичниковых (15), камнеломковых (8), гречишных (13), мареновых (8), первоцветных (5), фиалковых (5), толстянковых (5). Остальные семейства содержат по 1-3 вида.

Наибольшее количество видов стержнекорневых растений сконцентрировано в семействах сложноцветных (39 видов), гвоздичных (18), крестоцветных (14), лимониевых (5), гречишных (6), бобовых (44), зонтичных (9), бурачниковых (3), норичниковых (5). Большая часть дерновинных растений сосредоточена в семействах злаковых (23 вида), гвоздичных (6 видов).

Преобладание длиннокорневищных (88 видов; 14,1%) и коротkokорневищных (112 видов; 18,0%) видов отражает мезофитные условия луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик. По отношению к влажности доминируют мезоксерофиты (400 видов; 64,4%) и мезофиты (209; 33,5%).

Большинство среднегорных и пойменных лугов подгорных равнин Северного Тянь-Шаня, в том числе и хребта Кетпен-Темерлик, являются вторичными, возникшими в результате хозяйственной деятельности человека. Среднегорные луга появились на месте сведенных лесов или кустарников, пойменные луга также возникли в результате уничтожения в поймах лесов и кустарников. Если будет прекращен сенокос и выпас скота на среднегорных и пойменных лугах, они постепенно зарастут кустарниками, а при благоприятных условиях и лесом [25].

Географический анализ. В составе данной флоры выделено 32 географических элемента, объединенных в 7 групп ареалов (рис. 6).

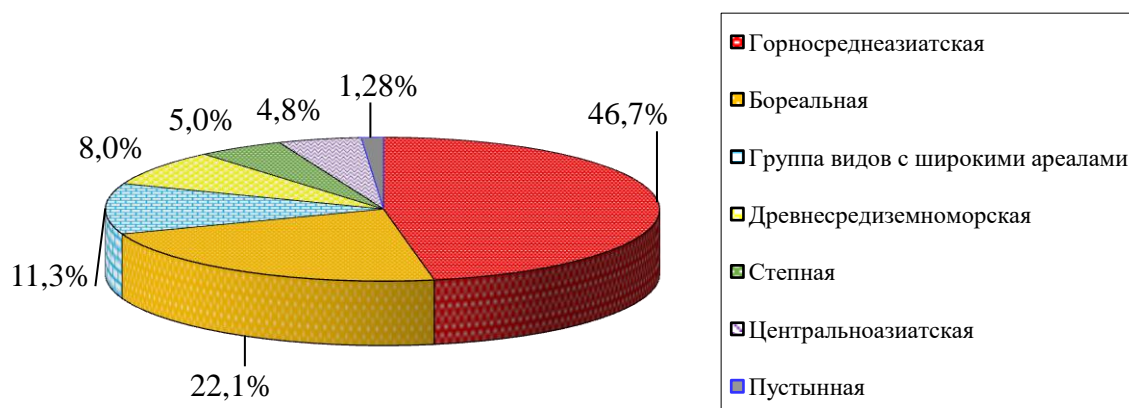


Рисунок 6. Распределение видов луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик в группах ареалов

Анализ состава лугового флористического комплекса по типам ареалов (таблица 3) показал, что около половины видов (292; 46,7%) имеют ареал, ограниченный территориями Горной Средней Азии. В связи с этим группа горносреднеазиатских видов является одной из ведущих в сложении лугового комплекса.

Таблица 3

Распределение видов луговой флоры хребта Кетпен-Темерлик по типам ареалов

Название ареала	Число видов	% от общего числа видов
1. Плурирегиональный	5	0,80
2. Голарктический	66	10,5
3. Палеарктический	79	12,6
4. Западнопалеарктический	20	3,2
5. Восточнопалеарктический	38	6,0
6. Древнесредиземноморский	12	2,0
7. Восточноедревнесредиземноморский	16	2,5
8. Европейско-древнесредиземноморский	22	3,5
9. Понтическое-древнесредиземноморский	6	0,96
10. Евразийский	14	2,24
11. Панноно-казахстанский	11	1,76
12. Евросибирский	1	0,16
13. Горносреднеазиатский	120	19,2
14. Горносреднеазиатско-иранский	22	3,52
15. Горносреднеазиатско-сибирский	21	3,36
16. Горносреднеазиатско-гималайский	8	1,28
17. Алтае-гималайский	4	0,64
18. Горносреднеазиатско-горноцентральноазиатский	8	1,28
19. Горноцентральноазиатский	1	0,16
20. Тянь-шаньский	19	3,04

21. Северотяньшаньский	26	4,16
22. Алтае-тяньшанский	18	2,88
23. Тарбагатае-тянь-шаньский	18	2,88
24. Алтае-кетпенский	10	1,60
25. Алтае-темерликский	1	0,16
26. Тяньшано-сибирский	33	5,28
27. Кетпено-терскейский	4	0,64
28. Кетпено-заилийский	4	0,64
29. Синьцзянский	9	1,44
30. Туранский	3	0,48
31. Турано-иранский	3	0,48
32. Турано-центральноазиатский	2	0,32
Всего:	624	100

В горносреднеазиатской группе насчитывается 120 собственно горносреднеазиатских видов, горносреднеазиатско-иранских видов - 22; горносреднеазиатских видов, имеющих связи с Сибирью и Алтаем, насчитывается 21. Большим числом видов представлена тянь-шаньская подгруппа – 129 видов (20,6%), из них собственно тянь-шаньских видов - 19; 33 вида - имеют связи с Сибирью, Алтаем и Тарбагатаем, северотяньшаньских видов – 26, кетпено-заилийских видов - 4, кетпено-терскейских видов – 4.

Следующими по величине являются виды, имеющие значительный ареал в пределах Палеарктики. Бореальная группа насчитывает 138 видов (22,1%), из них с ареалом по всей Палеарктике – 80 видов, в его восточной части – 38, в западной части – 20 видов. В группе видов с широкими ареалами значительное количество составляют голарктические виды – 66 видов (10,5%). В древнесредиземноморской группе насчитывается 50 видов (8,0%). Значительно количество видов и в степной группе – 31; 5,0%. Горноцентральноазиатская группа представлена 30 видами (4,8%). Небольшим числом видов представлена пустынная группа – 8 видов (1,28%) (рис. 6).

Заключение

Широкое развитие луговой растительности на хребте Кетпен-Темерлик связано с его географическим положением: он является самым северным окончанием Северного Тянь-Шаня, где климатические условия наиболее благоприятны для развития луговых ценозов. Здесь имеет значение и исторический момент - бореальные инвазии, происходившие в период плейстоцена, где именно в составе северотяньшанской луговой растительности наиболее ярко проявляются бореальные флористические связи.

Как показал анализ, луговой флористический комплекс хребта Кетпен-Темерлик представлен бореальными видами. Значительную роль в нем, 73,6% от общего числа, играют флористические элементы с ареалами бореального типа – горносреднеазиатского, палеарктического, горноцентральноазиатского и голарктического.

Список литературы

1. Anna Westin, Tommy Lennartsson, Anamaria Iuga: Managing biodiversity rich hay meadows in the EU: A comparison of Swedish and Romanian grasslands. //Environmental Conservation. - 2013. - Vol. 40 (2). - P. 194-205.

2. Poschlod P. & Wallis de Vries M.F. The historical and socioeconomic perspective of calcareous grasslands: lessons from the distant and recent past. //Biological Conservation- 2002. – Vol. 104. - P. 361-376.
3. Brinkmann K., Pacurar F., Rotar I., Rusdea E., Auch E. & Reif A. The grasslands of the Apuseni mountains, Romania. In: Grasslands in Europe of High Nature Value, ed. P. Veen, R. Jefferson, J. de Smidt & J. van der Straaten, The Netherlands. - 2009. - P. 226-237.
4. Kluvánková-Oravská T., Chobotová V., Banaszak I., Slavikova L. & Trifunovova, S. From government to governance for biodiversity: the perspective of Central and Eastern European transition countries. // Environmental Policy and Governance. - 2009. – Vol. 19. - P. 186-196.
5. Nagy L., Grabherr G., Körner C., Thompson DBA: Alpine biodiversity in Europe. - Berlin: Springer-Verlag, 2003.
6. Fu Y., Grumbine R.E., Wilkes A., Wang Y., Xu J-C. & Yang Y-P. Climate change adaptation among Tibetan pastoralists: challenges in enhancing local adaptation through policy support. Environmental Management. - 2012. – Vol. 50. (4). - P. 607-621.
7. Brockett B.H., Biggs H.C. & van Wilgen B.W. A patch mosaic burning system for conservation areas in southern African savannas. //International Journal of Wildland Fire. - 2001. Vol. 10. (2). - P. 169-183.
8. Gustavsson E., Dahlström A., Emanuelsson M., Wissman J.& Lennartsson T. Combining historical and ecological knowledge to optimise biodiversity conservation in semi-naturalgrasslands. In: The Importance of Biological Interactions in the Study of Biodiversity ed. J.L. Pujol. – Rijeka. - 2011. - P. 173-196.
9. Атлас Казахской ССР. Природные условия и ресурсы. - Москва: Главное управление геодезии и картографии при Совете Министров СССР. - 1982. - 81 с.
10. Скворцов А.К. Гербарий. Пособие по методике и технике. -Москва: «Наука», 1977. -199с.
11. Флора СССР. - Москва: - Ленинград, 1934-1964. - Т.Т. 1-30.
12. Деревья и кустарники СССР. - Москва: «Мысль», 1966. - 637 с.
13. Флора Казахстана. - Алма-Ата, - 1956-1966. - Т.Т. 1-9.
14. Деревья и кустарники Казахстана. – Алма-Ата. - Т.Т. 1-2. - 1966.
15. Растения Центральной Азии. / Под ред. В.И. Грубова. - Москва: Ленинград, 1963-1989. - вып. 1-9.
16. Определитель растений Средней Азии. - Ташкент: ФАН, 1968-1993. - Т.Т. 1-10.
17. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. - Алма-Ата, - 1962-1975. - Т.Т. 1-2.
18. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). - СПб.: Мир и семья, 1995.- 990 с.
19. Абдулина С.А. Сосудистые растения Казахстана. - Алматы, 1998. - 188 с.
20. Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. - Москва: -Л., 1987. - 439 с.
21. Лавренко Е.М., Никольская Н.И. Ареалы некоторых центральноазиатских и северотуранских видов пустынных растений и вопрос о ботанико-географической границе между Средней Азией и Центральной Азией //Ботанический журнал 1963. - № 48 (12). - С. 1741 - 1761.
22. Толмачев А.И. Введение в географию растений. – Ленинград, 1974. - 244 с.
23. Камелин Р.В. Флора Сырдарьинского Каратау // Материалы к флористическому районированию Средней Азии. - Ленинград, -1990. - 145 с.
24. Голоскоков В.П. Флора и растительность высокогорных поясов Заилийского Алатау. – Алма-Ата, 1949. – 203 с.
25. Рубцов Н.И. Луга Северного Тянь-Шаня //Труды института ботаники АН КазССР 1965. – Т. 1. – С. 5 – 35.

Г.А. Садырова¹, Т.А. Базарбаева¹, Д.К. Байжигитов², С.М. Жамилова²

¹Өл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

Кетпен-Темірлік жотасының шалғынды флористикалық кешенінің биоалуантүрлілігі

Аңдатпа: Бұл мақалада Қазақстан мен Қытай аумағындағы Кетпен-Темірлік жотасының шалғынды флорасы бойынша көпжылдық зерттеулердің нәтижелері келтірілген. Жұмыста Кетпен-Темірлік жотасының шалғынды флористикалық кешеніне талдау жасалған. Шалғынды флористикалық кешенінің түрлік құрамының таксономиялық әртүрлілігі, шалғынды түрлердің тіршілік формаларын биоморфологиялық талдау анықталды. Сондай-ақ, шалғынды түрлердің әр түрлі географиялық түрлерге жататындығы, шалғынды флораның егжей-тегжейлі флористикалық талдауы 230 ұрпақ пен 47 отбасына жататын тамырлы өсімдіктердің 624 түрін анықтауға мүмкіндік берді. Өсімдіктердің негізгі жүйелі топтары бойынша шалғынды флораны Магнолиофит бөлімі ұсынады, ол барлық түрлер құрамының 82,2% құрайды, ал Liliopsida бөлімінің аз ғана 17,1%-ын құрайды. Шалғынды флорадағы монокотилонды және екібұрышты өсімдіктердің қатынасы 1 : 4,8 құрайды. Монокотилондардың жалпы саны 107 түрді немесе түрлердің жалпы санының 17,1% құрайды, екібұрышты өсімдіктердің 517 түрі немесе 82,2%. Шалғынды флораның ең үлкен отбасыларын талдау 504 түрді қамтитын түрлердің ең көп саны бойынша ең үлкен 16 отбасын бөлуге мүмкіндік берді. Кетпен-Темірлік жотасының шалғынды флорасы кландар түрлерінің байлығын талдау, 230 ұрпақтың ішінде 8 ұрпақ үлкен (10 немесе одан да көп). Полиморфты ауру флора болып табылады: *Potentilla*, *Carex*, *Ranunculus*, *Taraxacum*, *Astragalus*, *Silene*, *Veronica*. Шалғынды флораның жетекші түрлеріне 25,1% келеді. Жүргізілген талдау негізінде шалғынды флораның бореалдық сипаты көрсетілді, шалғынды флора арасында Кетпен-Темірлік тау-Орта Азияның аумақтарымен шектелген ареалы бар тау-кен ортаазиялық түрлердің үлкен болуы анықталды.

Түйін сөздер: биоалуантүрлілік, флора, Кетпен-Темірлік жотасы, флористикалық кешені.

G.A. Sadyrova¹, T.A. Bazarbaeva¹, D.K. Bayzhigitov², S.M. Jamilova²

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Abai Kazakh National Pedagogical University, Almaty, Kazakhstan

Biodiversity of the meadow floristic complex of the ridge Ketpen-Temerlik

Abstract. This article presents results of long-term studies of the meadow flora of the Ketpen-Temerlik ridge within Kazakhstan and China. The article presents an analysis of the meadow floristic complex of the Ketpen-Temerlik ridge. The taxonomic diversity of species composition of meadow floristic complex, biomorphological analysis of life forms of meadow species, and also the belonging of meadow species to different geographical types of areas. A detailed floristic analysis of meadow flora made it possible to identify 624 species of vascular plants belonging to 230 genera and 47 families. According to the main taxonomic groups of plants, the meadow flora is represented by the Magnoliophyta department, which accounts for 82.2% of the total species composition, and only an insignificant percentage is in the Liliopsida department, 17.1%. The ratio of monocotyledonous and dicotyledonous plants in meadow flora is 1: 4.8. The total number of monocotyledons covers 107 species or 17.1% of the total number of species, there are 517 species of dicotyledonous plants or 82.2%. Analysis of the largest families of meadow flora made it possible to identify 16 largest families by the largest number of species, which contain 504 species. Analysis of the species richness of the genera of

flora are: *Potentilla*, *Carex*, *Ranunculus*, *Taraxacum*, *Astragalus*, *Silene*, *Veronica*. The leading genus of meadow flora accounts for 25.1%. The article considers a boreal nature of the meadow flora. The article reveals a large presence among the meadow flora of Ketpen-Temerlik of mountainous middle asian species with an area limited to the territories of Mountainous Middle Asia.

Keywords: biodiversity, flora, Ketpen-Temerlik ridge, floristic complex.

References

1. Anna Westin, Tommy Lennartsson, Anamaria Iuga: Managing biodiversity rich hay meadows in the EU: A comparison of Swedish and Romanian grasslands. *Environmental Conservation*. 40(2), 194-205 (2013).
2. Poschlod P. & Wallis de Vries M.F. The historical and socioeconomic perspective of calcareous grasslands: lessons from the distant and recent past. *Biological Conservation*. 104, 361-376 (2002).
3. Brinkmann K., Pacurar F., Rotar I., Rusdea E., Auch E. & Reif A. The grasslands of the Apuseni mountains, Romania. In: *Grasslands in Europe of High Nature Value*, ed. P. Veen, R. Jefferson, J. de Smidt & J. van der Straaten, (The Netherlands, 2009, p. 226-237).
4. Kluvánková-Oravská T., Chobotová V., Banaszak I., Slavikova L. & Trifunovova, S. From government to governance for biodiversity: the perspective of Central and Eastern European transition countries. *Environmental Policy and Governance*. 19, 186-196 (2009).
5. Nagy L., Grabherr G., Körner C., Thompson DBA: *Alpine biodiversity in Europe*. (Springer-Verlag, Berlin, 2003, P. 6).
6. F, Y., Grumbine R.E., Wilkes A., Wang Y., Xu J-C. & Yang Y-P. Climate change adaptation among Tibetan pastoralists: challenges in enhancing local adaptation through policy support. *Environmental Management*. 50(4), 607-621 (2012).
7. Brockett B.H., Biggs H.C. & van Wilgen B.W. A patch mosaic burning system for conservation areas in southern African savannas. *International Journal of Wildland Fire*. 10(2), 169-183 (2001).
8. Gustavsson E., Dahlström A., Emanuelsson M., Wissman J.& Lennartsson T. Combining historical and ecological knowledge to optimise biodiversity conservation in semi-naturalgrasslands. In: *The Importance of Biological Interactions in the Study of Biodiversity* ed. J.L. Pujol, (Rijeka, 2011, P. 173-196).
9. Atlas Kazahskoj SSR. Prirodnye usloviya i resursy [Atlas of the Kazakh SSR. Natural conditions and resources]. (Glavnoe upravlenie geodezii i kartografii pri Sovete Ministrov SSSR, Moskva, 1982, 81 p) [in Russian].
10. Skvorcov A.K. Gerbarij. Posobie po metodike i tekhnike [Methodical and technical manual]. (Moskva, 1977, 199 p.) [in Russian].
11. Flora SSSR [Flora SSSR]. (Leningrad, Moskva, 1934-1964) [in Russian].
12. Derev'ya i kustarniki SSSR [Trees and shrubs of the USSR]. (Mysl', Moskva, 1966, s. 637) [in Russian].
13. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan]. (Alma-Ata, 1956-1966) [in Russian].
14. Derev'ya i kustarniki Kazahstana [Trees and shrubs of Kazakhstan]. (Alma-Ata, 1966) [in Russian].
15. Rasteniya Central'noj Azii [Plants of Central Asia]. (Leningrad, Moskva, 1963-1989) [in Russian].
16. Opredelitel' rastenij Srednej Azii [The determinant of plants in Central Asia], (Tashkent, 1968-1993) [in Russian].
17. Illyustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana [Illustrated determinant of plants of Kazakhstan]. (Alma-Ata, 1962-1975) [in Russian].
18. Sosudistye rasteniya Rossii i sopredel'nyh gosudarstv, v predelah byvshego SSSR)

[Vascular plants of Russia and neighboring states, within the former USSR]. (Sankt-Peterburg, 1995, 990 p.) [in Russian].

19. Abdulina S.A. Sosudistye rasteniya Kazahstana [Vascular plants of Kazakhstan]. (Almaty, 1998, 188 p.) [in Russian].

20. Takhtadzhyan A.L. Sistema magnoliofitov [Magnoliophyte system]. (Leningrad, Moskva, 1987, 439 p.) [in Russian].

21. Lavrenko E.M., Nikol'skaya N.I. Arealy nekotorykh central'noaziatskikh i severoturanskikh vidov pustynnykh rastenij i vopros o botaniko-geograficheskoj granice mezhdru Srednej Aziej i Central'noj Aziej [The ranges of some Central Asian and Northern Turkish species of desert plants and the question of the botanical-geographical border between Central Asia and Central Asia]. Botanicheskij zhurnal [Botanical journal]. 48(12), 1741-1761 (1963) [in Russian].

22. Tolmachev A.I. Vvedenie v geografiyu rastenij [Introduction to plant geography]. (Leningrad, 1974, 244 p.) [in Russian].

23. Kamelin R.V. Flora Syrdar'inskogo Karatau. [Flora of the Syrdarya Karatau]. Materialy k floristicheskomu rajonirovaniyu Srednej Azii [Materials for floristic zoning of Central Asia]. (Leningrad, 1990, 145 p.) [in Russian].

24. Goloskokov V.P. Flora i rastitel'nost' vysokogornyh pojasov Zailijskogo Alatau [Flora and vegetation of the high mountain belts of the Zailiyskiy Alatau]. (Alma-Ata, 1949, 203 p.) [in Russian].

25. Rubcov N.I. Luga Severnogo Tyan'-SHanya [Meadows of the Northern Tien Shan]. Trudy instituta botaniki AN KazSSR [Proceedings of the Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR]. 1, 5-35 (1965) [in Russian].

Сведения об авторах:

Садырова Г.А. - доктор биологических наук, профессор кафедры «ЮНЕСКО по устойчивому развитию» КазНУ им. Аль-Фараби, пр. аль-Фараби, 71, Алматы, Казахстан.

Базарбаева Т.А. - кандидат биологических наук, профессор кафедры «ЮНЕСКО по устойчивому развитию» КазНУ им. аль-Фараби, пр. аль-Фараби, 71, Алматы, Казахстан.

Байжигитов Д.К. - кандидат биологических наук, старший преподаватель КАЗНПУ им. Абая, пр. Достык, д. 13, Алматы, Казахстан.

Жамилова С.М. - старший преподаватель КАЗНПУ им. Абая, пр. Достык, д. 13, Алматы, Казахстан.

Sadyrova G.A. - Doctor of Biological Sciences, Professor of the UNESCO Department for Sustainable Development, Al-Farabi Kazakh National University, Al-71 Farabi ave., Almaty, Kazakhstan.

Bazarbaeva T.A. - Candidate of Biological Sciences, Professor of the UNESCO Department for Sustainable Development, Al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi ave., Almaty, Kazakhstan.

Bayzhitov D.K. - Candidate of Biological Sciences, Senior Lecturer at Abai Kazakh National Pedagogical University, 13 Dostyk ave., Almaty, Kazakhstan.

Zhamilova S.M. - Senior Lecturer at Abai Kazakh National Pedagogical University, 13 Dostyk ave., Almaty, Kazakhstan.

Батыс Қазақстан облысы микобиотасының зерттелу тарихы

Аңдатпа. Биоалуантүрлілік конвенциясында (1992) түрлерді сақтау, зерттеу және қорғау мәселелерін шешу экожүйелердің тұрақтылығының кепілі ретінде қарастырылады. Біздің елімізде де биоалуантүрлілікті сақтау және биоресурстарды тиімді пайдалану өзекті мәселелердің бірі болып саналады. Саңырауқұлақтар басқа да гетеротрофты ағзалар қатарында кез келген экожүйелердің қызметінде маңызды рөл атқарады. Саңырауқұлақтар өсімдіктерге тәуелді, белгілі бір өсімдіктер қауымдастықтарымен тығыз байланыста болатындықтан, өсімдіктер қауымдастықтары да, өз кезегінде, саңырауқұлақтарсыз тіршілік ете алмайды. Зерттеу нысанымыз қалпақшалы саңырауқұлақтарды биогеоценоздың маңызды бір бөлігі ретінде қарастыру, олардың түрлік құрамына зерттеу жүргізбеу мүмкін емес. Зерттеу аумағының көлемінде макромицеттер туралы ақпараттың жеткіліксіздігі тиісті экожүйелерді жан-жақты әрі толық зерттеуге және жекелеген аймақтарда табиғатты қорғаудың кешенді тәсілін жасауға кедергі келтіріп қана қоймай, сонымен бірге саңырауқұлақтар географиясы мен олардың таралу заңдылықтарының жалпы мәселелерін анықтауды қиындатады. Әсіресе Батыс Қазақстан облысының микрофлорасы туралы ақпараттың аздығы, тек эпизодты деректердің келтірілуі, осы аймақтың микобиотасының зерттелу тарихын жан-жақты қарастыруды қажет етеді.

Түйін сөздер: макромицеттер, микрофлора, зерттелу тарихы, биоалуантүрлілік, микобиота, Жайық өзені.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-26-34

Кіріспе

Қазіргі кездері әлемде биоалуантүрлілікті сақтау мен табиғи қорларды ұтымды пайдалану мәселесі ғаламдық басымдықтардың бірі екені даусыз. Биологиялық алуантүрлілікті сақтау мәселесі мемлекеттің биологиялық қауіпсіздігімен тікелей байланысты және оның негізгі компоненті болып табылады. Табиғаттағы бір түрдің жойылуы - биологиялық алуантүрліліктің бір түрге кемуі ғана емес, сонымен қатар ғасырлар бойы қалыптасқан тепе-теңдік пен биологиялық үдерістердің бұзылуы деген сөз [1]. Осы орайда экожүйелердегі өсімдік полимерлерін ыдыратуда жетекші рөл атқарып, биогенді элементтердің және энергияның биосферадағы айналымын қамтамасыз етуде жетекші орынға ие қалпақшалы саңырауқұлақтардың алуантүрлілігін, таралу ерекшеліктерін зерттеу өзекті мәселелердің қатарында [2].

Бүгінге дейін Жайық өзені аңғары орман алқаптарының флорасы мен өсімдік жамылғысына ауқымды зерттеулер жүргізілгенмен, Жайық өзені мен оның ірілі-ұсақты салаларында орналасқан орман қауымдастықтарындағы макромицеттер әлі де толыққанды жүйелі зерттеу жұмыстарын қажет етеді. Батыс Қазақстан облысы флорасының зерттелуі ХХ ғасырдың басында басталып, КСРО ҒА Ботаника институты мен басқа да орталықтар және жергілікті ғылыми мекемелердің экспедициялық зерттеулері негізінде біршама мәліметтер жинақталған. Алайда облыс көлемінде қалпақшалы саңырауқұлақтардың зерттелуі туралы маңызды мәліметтер тіркелмеген, тек қана эпизодты түрдегі деректер көрініс табады. Осы жағдайлар аймақтағы қалпақшалы саңырауқұлақтардың түрлік құрамына арнайы зерттеулер жүргізіліп, жүйелік талдаулар жасауды қажет етеді.

Экологиялық-трофикалық тұрғыда саңырауқұлақтар тек қана осмотрофтық жолмен қоректенетін гетеротрофты эукариоттық организмдер. Вегетативтік денесі субстрат ішінде

дамып, оның бетінде споратүзгіш органдары шығып тұрады. Көптеген саңырауқұлақ түрлерінің (макромицеттер) споратүзгіш органдары ірі, көзге оңай шалынады [2].

Негізгі бөлім

Қалпақшалы саңырауқұлақтардың басым көпшілігі орманды зонаға бейімделген, оңтүстік далалар мен жартылай шөлейтті аймақтарда жиі кездеспейді. Е.А. Агелеуов (1987) бойынша Жайық өзенінің жайылмасында орманды (66,8 %) және далалық (26,6 %) түрлер басым, ал шөлейтті өсімдік (4,4 %) түрлерінің рөлі зор емес. Көптеген геоботаникалық жұмыстарда далалы және жартылай шөлейтті аймақтардың жоғары сатыдағы өсімдіктер флорасына ауқымды сипаттамалар берілгенмен саңырауқұлақтар биотасы туралы ақпарат өте аз.

Бұл тұжырым Батыс Қазақстан облысы көлеміндегі Жайық өзенінің ортаңғы және төменгі ағысында орналасқан аудандарға тән. Осындай некен-саяқ жұмыстардың қатарында С.Р. Шварцманның Қазақстанның саңырауқұлақтары жинағында [3] Батыс Қазақстан облысына қатысты келтірілген көктерек саңырауқұлағы, қайыңқұлақ және күзгі томарқұлақ жайлы мәліметтерді көрсетуге болады.

Кейінірек, В.В. Иванов 1960 жылғы еңбегінде бірқатар қалпақшалы саңырауқұлақтардың жекелеген түрлерін тіркеп, облыстың оңтүстік-шығыс аудандарының далалық және жартылай шөлейттеріне тән саңырауқұлақтардың флорасы жайлы мәліметтерді толықтыра түсті [4].

Кәдімгі дала зонасы жағдайында кездесетін саңырауқұлақтардың ішінен тікенді жаңбырқұлақ (*Lycoperdon perlatum* Pers.) пен алып кальвацияны (*Calvatia gigantea* [Pers.] Lloyd.) атауға болады. Бұл түрлерді тек Алматы, Қостанай және Ақтөбе облыстарының аумағында табылғанын зерттеу жұмыстары көрсеткенімен [3], В.В. Иванов Батыс Қазақстан облысында бұл түрлер сирек түрлердің қатарында емес екенін жазады. Біріншісі облыстың барлық дерлік далалы ауданына қалыпты түр болса, екінші түрді Новая Казанка ауылы маңынан (Жаңақала ауданы) 1950 жылдың шілдесінде В.В. Иванов нағыз жартылай шөлейтті аймақтан тіркеген. Осы түрді кейін 1955 жылдың шілде айында Қырыққұдық қыстауынан оңтүстікке қарай бағытта табылғанын да жазады [4].

1943 жылдың қыркүйегінде Орал қаласының маңындағы Аялдау тоғайындағы (Перевалочная роща) ескі теректердің арасынан табылған түрлік статусы анықталмаған жұмыршақ (сморчок) (*Morchella* sp.) Батыс Қазақстан облысы үшін сирек кездесетін макромицет болып табылады. Осы Аялдау тоғайы мен Жайық өзенінің бойындағы басқа да теректі және шегіршінді-теректі ормандарда күзгі томарқұлақты (*Armillaria mellea* [Fr.] Quel.) кездестіруге болады. Ғылыми қолжазбаларда сол жылдары маринадталған және тұздалған томарқұлақ пен қатар ақ саңырауқұлақтардың да Орал базарларында жиі сатылатындығы анық айтылады. Бұл түрлердің Жайық өзенінің жайылмалы су ормандарындағы қайыңды және теректі-шегіршінді еменді ормандарда кездеседі деп көрсетіледі [4].

Амангелді ауылы маңындағы қайыңды орман алқабы мен Жалпы Сырттың оңтүстік бөлігіндегі қайың қосындылы еменді ормандарда кәдімгі қайыңқұлақ (*Boletus scaber* Fr.) та кездеседі. Сондай-ақ, 1954 жылдың қыркүйегінде облыстың оңтүстігіне қарай Қарағаш шатқалында (Шыңғырлау ауданы) табылған саңырауқұлақ айрықша белгілерімен ерекшелік танытатынын да В.В. Иванов көрсетіп кеткен. Ол осы орманды құраушы негізгі түрлер қайың мен көктеректің етегінде кәдімгі груздь (*Lactarius controversus* [Fr.] Fr.) және сарғыш-қоңыр көктерек саңырауқұлағына (*Boletus versipellis* Fr.) да кезіккенін жазады. Бұл түрлер Жайық өзенінің жайылмалы су ормандарында кездеседі. Профессор В.В. Иванов, А.Д. Фурсаев пен О.Н. Комирна Богдинск орман желегінде груздьті тіркеп, Жәнібек станциясының маңындағы ескі аралас орманды желекте *Clitocybe aggregate* Gill. мен рядовканы (*Tricholoma irinum* [Fr.] Quel.) тапқанын да жазады [5].

Жайықтың ақтеректі және қаратеректі жайылмалы су ормандарында Кандоль жалған томарқұлағы (*Hypopholoma candolleianum* [Fr.] Quel) мен ақ поплавокты (*Amanitopsis vaginata* var *alba*

Fr.) кездестіруге болатындығын да Ботаникалық журналда жарияланған қысқаша хабардан көре аламыз. Ағашқысы шілде-тамыз аралығында жиі кездесе, екіншісі сиректеу кезігеді. Оралдың маңындағы Хан тоғайы мен өзге теректі және талды ормандарына күз мезгілінде (қыркүйек) қиқұлақтардың ішінен ақ қиқұлақ (*Coprinus comatus* [Fr.] Fr.) пен сұр қиқұлақты (*C. atramentarius* [Fr.] Fr.) байқай аламыз деп көрсеткен. Соңғысы жайылмадан тыс 1950 жылдың қыркүйегінде Дюринск далалы арнасының төменгі ағысындағы Белағаш көктеректі шатқалында табылған. Қысқы *Collybia velutipes* [Curt.] Quel. Жайық өзенінің бір саласы Шаған өзенінің бойындағы көктерек пен ақтеректі ормандарда да жиі кездеседі. Шағанның жайылмасында тамыздың соңы мен қыркүйекте кейде дөңгелек кәлақұлақ (*Calvatia caelata* [Bull.] Morg.) байқалса, кәдімгі қозықұйрық (*Psalliota campestris* [Fr.] Quel.) жаз мезгілінің екінші жартысында жиі табылатын қарапайым саңырауқұлақ болып табылады [4].

Зерттеу мәліметтерінде облыстың солтүстік аймақтарындағы талды екпелерде А.Д. Фурсаев пен О.Н. Комирна белгілеген жіңішке шошқақұлақты (*Paxillus involutus* [Fr.] Fr) өз далалық жұмыстарында В.В. Иванов кезіктірмеген [4, 5].

Батыс Қазақстан облысының микобиотасына тән тағы бір қарапайым түр деп В.В. Иванов нағыз ағашқұлақты (*Fomes fomentarius* [Fr.] Gill.) көрсетеді. Осы автор бұл макромицеттің Жайық өзенінің теректі және көктеректі жайылмасындағы Петрова ауылы маңындағы шағын орман мен қарағаш тоғайында қалыпты түр екенін көрсетсе, жалған ағашқұлақтың (*F. igniarius* [Fr.] Quel.) сирек, ал күкіртсары ағашқұлақтың (*Polyporus sulfureus* Fr.), шұбар ағашқұлақтың (*P. squamosus* Fr.) және күзгі ілмешектің (*Pleurotus salignus* [Fr.] Quel.) өте сирек кезітетінін өз жазбасында келтіреді. *Polyporus sulfureus* Fr. Хан тоғайында шегіршіннің діңінде табылса, *P. squamosus* Fr. терек пен шегіршінде тіркелген [4].

Осылайша, В.В. Иванов Батыс Қазақстан облысының көлеміндегі Жайық өзені аңғарының орманды алқабында қалпақшалы саңырауқұлақтардың 24 түрін тіркеп, бұл тізімнің басым көпшілігі далалы және жартылай шөлейтті зоналарда сиректік танытпайтындығын айқын көрсетеді.

Батыс Қазақстан облысының микобиотасы туралы ақпарат жоғарыда көрсетілген ғылыми еңбектерден кейін әдебиет көздердерінде тек қана 1985 жылы Д.И. Самгинаның авторлығымен жарияланған «Қазақстанның споралы өсімдіктер флорасы» атты Республика территориясында анықталған саңырауқұлақтардың 4,5 мыңнан аса түрлеріне жан-жақты сипаттамалар келтірілген 13 томдық 20 кітаптан тұратын кешенді басылымның 13-томының 2-кітабында көрсетілген [6].

Аталған ғылыми әдебиеттегі зерттеулерде Батыс Қазақстан облысындағы Бөрлі ауданы, Утвинка еменді орманында 1952 жылы М.А. Тартенованың сары сазқатпаны (сыроежка) (*Russula fellea* (Fr.) Fr., Epicr.), 1953 жылы осы орманда емен груздін (*Lactarius insulsus* (Fr.) Fr., Epicr.) тапқанын жазады. 1978 жылы Л.Г.Бурова Жәнібек ауылы маңындағы далада Мозер лейкоагарикусын (*Leucoagaricus thoseri* (S. Wasser)), 1981 жылы Жәнібек ауылындағы шегіршінді орман екпелерінде ұзынтамырлы лейкоагарикусты (*Leucoagaricus macrorhizus* Locq. ex Nogak, Beitrag Kript. Fl. Schweiz.) тіркегенін жазады [7].

Бұл басылымда да мәліметтер өткен ғасырдың екінші жартысында жүргізілген зерттеулер мен жинақтар негізінде келтірілген, ал кейінгі жылдары елімізде жүргізілген зерттеулерде Батыс Қазақстан облысының микофлорасы тысқары қалған.

Батыс Қазақстан облысы екі ірі Евразиялық-далалық және Сахара-Гобилік шөлейтті ботаникалық-географиялық зонада, голарктикалық патшалық, бореальдық және жерортатеңіздік екі патшалықтармақтың шекарасында орналасқан. Жайық өзенінің жайылмасы Батыс Қазақстан облысы шегінде үш табиғи зонадан: далалық, жартылай шөлейт және шөлейттен өтеді. Облыс республиканың шеткі солтүстік-батысында Жайық өзені бассейнінің ортаңғы ағысының төменгі бөлігі мен төменгі ағысының жоғарғы бөлігінде орналасқан [8].

Алайда бір Еуразиялық далалық зонада орналасқан Орталық және Солтүстік Қазақстан облыстары аумағында микобиоталық зерттеулер біздің облысқа қарағанда айтарлықтай

қарқынды жүргізілгенін байқауға болады. Мәселен, Д.И. Самгинаның Солтүстік Қазақстан және Көкшетау облыстарында өсетін қалпақшалы саңырауқұлақтардың 67 түріне сипаттама жасағаны белгілі [7]. Ал Қарағанды облысының жерлерін зерттеу барысында М.П. Васягина агарика саңырауқұлақтарының 17 тұқымдасқа, 23 туысқа жататын 313 түрін анықтаған [7]. Салыстырмалы мақсатта қарастырсақ, Ж.А.Адамжанова Ертістің Павлодар өңірінде афиллофора саңырауқұлақтарының микобиотасының түрлік құрамын алғаш рет арнайы зерттеп, олардың 34 туыс, 12 тұқымдасқа бірігетін 49 түрге сипаттама берген [9, 10]. 2009-2011 жылдары ҚР БҒМ іргелі (фундаментальды) зерттеулер бағдарламасы бойынша профессор С.А.Абиевтің жетекшілігімен Еуразия ұлттық университетінің және ҚР БҒМ Ботаника және фитоинтродукция институтының қызметкерлері біріккен қалпақшалы саңырауқұлақтарға арналған зерттеулер республиканың орталық, солтүстік-шығыс аймақтарында жүргізілді [11]. Зерттеу жұмыстары нәтижесінде анықталған жеуге жарамды және улы макромицеттер жайлы мәліметтер бірқатар мақалаларда көрініс тапқан [12, 13, 14]. Соңғы жылдары осы аумақта өсетін агарика саңырауқұлақтарының жеуге жарамды және дәрілік түрлерінің тірі штаммдар коллекциясын құрып [15, 16], оларды филогенетикалық тұрғыда қарастыру жайлы жұмыстарды Р.З.Асилханованың еңбектерінен де көруге болады [17, 18, 19, 20]. Ал В.А.Федоренко 2019 жылы жарыққа шыққан мақаласында [22] Қазақстан Республикасына тән базидиомицеттердің жаңа түрлері жайлы тізімінде 87 түрдің 53-і Солтүстік Қазақстанға қарасты Ақмола облысында тіркелгенін жазды [21]. Жаңа жұмыстардың ішінен Қазақстанның орталық, солтүстік-шығыс бөлігіндегі негізгі орман ағаштарынан құралған эктомикоризді флора мен эктомикориза түзетін саңырауқұлақтар ретінде жиналған макромицеттерді көрсеткен Д.Н. Сарсекованың жұмысын атауға болады [22].

Қорытынды

Батыс Қазақстан облысы көлеміндегі Жайық өзені аңғары орманды алқабы макромицеттерінің түрлік құрамын зерттеудің фрагментарлы болуы, аумақтың микобиотасы туралы ақпараттың жеткіліксіздігі, мұндағы экожүйелерді жан-жақты, әрі толық зерттеуге және жекелеген аймақтарда табиғатты қорғаудың кешенді тәсілін жасауға кедергі келтіріп қана қоймай, сонымен бірге макромицеттер географиясы мен олардың таралу заңдылықтарының жалпы мәселелерін анықтауды қиындатады. Сол себепті Жайық өзені аңғары орманды алқабының макромицеттер алуантүрлілігіне зерттеу жүргізу, түрлік құрамын анықтау, олар туралы ақпараттарды толықтыруға және сирек кездесетін және қорғауға мұқтаж түрлерін тіркеуге мүмкіндік береді. Сондықтан да мұндай зерттеулердің теориялық және қолданбалы маңызы зор екені сөзсіз.

Саңырауқұлақ атаулары С.А. Абиевтің «Заманауи микология» [2] атты кітабында келтірілген сөздікке сәйкес берілді.

Әдебиеттер тізімі

1. Қазақстан Республикасының биологиялық ресурстарын сақтау мен дамытудың 2030 жылға дейінгі тұжырымдамасы. [Электронды реурс]. -2015. URL: <https://emirsaba.org/azastan-respublikasini-biologiyali-resurstarin-satau-men-damit.html> (Өтінім берілген күн: 13.11.2020)
2. Абиев С.А. Заманауи микология. - Алматы: Эверо, -2018. - 296 б.
3. Шварцман С.Р. Грибы Казахстана. - Алма-Ата: Изд.АН Каз.ССР, -1948. - 40 с.
4. Иванов В.В., Кольченко О.Т. К флоре грибов Западного Казахстана // Ботанический журнал. -1960. -Том 45, № 6. -С. 903-904.
5. Комирная О.Н., А.Д. Фурсаев. Лесные грибы лесопосадок полупустынного Заволжья и вопросы образования микоризы // Бот. журн. -1953. -Т. 38, № 3. -С. 426-428.

6. Абиев С.А., Асилханова Р.З. Қазақстанның улы саңырауқұлақтары // С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ғылым Жаршысы (пәнаралық). - 2017. – № 1(92). - Б.16-21.
7. Самгина Д.И. Флора споровых растений Казахстана // В кн.: Агариковые грибы. - Алма-Ата: Наука. 1985. 273 с.
8. Природно-ресурсный потенциал и проектируемые объекты заповедного фонда Западно-Казахстанской области /Петренко А.З., Джубанов А.А., Фартушина М.М., Чернышев Д.М., Тубетов Ж.М. – Уральск: РИО ЗКГУ, 2001. -175 с.
9. Адамжанова Ж.А. К микобиоте афиллофоровых грибов Павлодарского Прииртышья (1 часть). Естественные и технические науки, 2006. №6. - С. 153-154.
10. Адамжанова Ж.А. К микобиоте афиллофоровых грибов Павлодарского Прииртышья (2 часть). Естественные и технические науки, 2010. №3. - 115-117.
11. Создание коллекции и разработка технологии введения в культуру высокоурожайных штаммов природных съедобных грибов Казахстана: отчет о НИР (заключительный) / Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева: руков. Абиев С.А.; исполн.: Асилханова Р.З., Спанбаев А.Д.-Астана, 2011. - 80 с. - №ГР 0109РК00133. - Инв. №0211РК01063.
12. Абиев С.А., Нам Г.А., Асилханова Р.З. Съедобные макромицеты Центрально и северо-восточного Казахстана. //Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия Биологическая и медицинская. -2013. - №5 (299) - С. 16-21.
13. Асилханова Р.З. Съедобные макромицеты ГНПП Кокшетау. // «Валихановские чтения-17»: Сборник материалов Международной научно-практической конференции. Кокшетау, 2013. - С. 118-121.
14. Асилханова Р.З. Съедобные макромицеты ГНПП Каркаралы. // Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Астана, 2013.-№2 (93) - С. 213-216.
15. Асилханова Р.З. Съедобные макромицеты ГНПП Баянауыл. // Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Астана, 2013.- №6 (97) - С. 335-339.
16. Абиев С.А., Асилханова Р.З., Алиева Г.Б., Тағабаева А.О. Орталық және солтүстік-шығыс Қазақстанның айрықша қорғалатын табиғи аймақтарының афиллофора саңырауқұлақтары: түрлік және таксондық құрамы, бағалы түрлерінен штамдар коллекциясын жасау және молекулалық-гендік верификациялау. Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия Биологическая и медицинская. Алматы, 2015.- №3 (309) -С. 148-153.
17. Абиев С.А., Шнырева А.В., Нам Г.А., Асилханова Р.З., Абишева Г. Съедобные грибы порядка Agaricales особо охраняемых природных территорий центрального и северо-восточного Казахстана: создание коллекции штаммов и их молекулярная идентификация // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия Биологическая и медицинская. - Алматы, 2015. - №3 (309). - С. 154-161.
18. Asilchanova Roza, Abiev Sardarbek, Alla V. Shnyreva. Molecular identification of some edible mushrooms (order: Agaricales) from Central and North-Eastern Kazakhstan. // USA Biology and medicine Journal. -2015, vol.7 №2, -p.2-7
19. Абиев С.А., Асилханова Р.З., Сарсекова Д.Н., Қуанышбаев Н. Морфологиялық белгілері негізінде идентификацияланған *Pleurotus Pulmonarius* (Fr.) Quel саңырауқұлағының молекулалық верификациясы. Вестник Науки КАЗАТУ им. С.Сейфуллина. Астана, 2016. - №2 (89) – С. 4-11.
20. С.А. Абиев, Р.З. Асилханова, Ш.М. Абеуова. Агарикоидты саңырауқұлақтардың табиғи популяциясынан бөлініп алынған культураларды морфобиологиялық зерттеу және ұзақ сақтау мәселелері. Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. Астана, 2016. - №4 (113) -С. 9-17.
21. Fedorenko V.A. Annotated checklist of Basidiomycota new to Republic of Kazakhstan. Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology). 2019, vol. 9 (1), 271-287 p. DOI:10.5943/cream/9/1/23.

22. Sarsekova D., Ayan S., Talgat A. Ectomycorrhizal Flora Formed by Main Forest Trees in the Irtysh River Region of Central and Northeastern Kazakhstan. South-east Eur for. -2020. Vol. 11(1) p.61-69. DOI:https://doi.org/10.15177/see-for.20-06.

С.А. Абиев¹, Т.Е. Дарбаева², А.Н. Сарсенова¹

¹Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

²Западно-Казахстанский университет им. М.Утемисова, Уралск, Казахстан

История изучения микобиоты Западно-Казахстанской области

Аннотация. Конвенция о биологическом разнообразии (1992 г.) рассматривает сохранение, исследование и защиту видов как гарантию устойчивости экосистемы. Одними из наиболее актуальных проблем в Республике Казахстан являются сохранение биоразнообразия и рациональное использование биологических ресурсов. Грибы как гетеротрофные организмы играют существенную роль в функционировании любых экосистем. И хотя грибы зависят от растений, склоняясь к достаточно замкнутым связям с определенными растительными сообществами, растительные сообщества, в свою очередь, не способны существовать без грибов. Недостаточность сведений о макромицетах в пределах исследуемого региона препятствует не только разностороннему и исчерпывающему изучению соответствующих экосистем и разработке комплексного подхода к охране природы в отдельных регионах, но и затрудняет выяснение общих вопросов географии грибов и закономерностей их распространения. Ограниченность информации о микофлоре Западно-Казахстанской области, приведение лишь эпизодических данных обуславливают необходимость рассмотрения истории изучения микобиоты. Об этом свидетельствуют материалы, приведенные в данной статье.

Ключевые слова: макромицеты, микофлора, история изучения, биоразнообразие, микобиота, река Урал.

S.A. Abiev¹, T.E. Darbayeva², A.N. Sarsenova¹

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

²Makhambet Utemisov West Kazakhstan University, Uralsk, Kazakhstan

The history of the study of mycobiota in the West Kazakhstan region

Abstract. The Convention on Biological Diversity (1992) considers conservation, research and conservation as a guarantee of ecosystem sustainability. One of the most pressing problems in the Republic of Kazakhstan is the conservation of biodiversity and the rational use of biological resources. Fungi as heterotrophic organisms play a vital role in the functioning of any ecosystem. Although the fungi depend on plants, leaning towards sufficiently closed connections with certain plant communities, plant communities, in turn, are not able to exist without fungi. The study of macromycetes as components of biogeocenosis, is impossible without studying their species composition. The lack of information about macromycetes in the regions under study prevents not only the diversification and exhaustion of the study of the corresponding ecosystem and the development of a comprehensive approach to the protection of natural resources in the department. Especially limited information about the microflora of the West Kazakhstan region, the introduction of only episodic data requires a review of the history of the study of mycobiotics. This is evidenced by the materials provided in this article.

Keywords: macromycetes, mycoflora, history of study, biodiversity, mycobiota, Ural river.

References

1. Kazakstan Respublikasynyn biologiyalyk resurstaryn saktau men damytudyn 2030 zhyлга dejingi tuzhyrymdamasy [Concept of conservation and development of biological resources of the Republic of Kazakhstan until 2030]. [Electronic resource]. Available at: <https://emirsaba.org/azastan-respublikasini-biologiyali-resurstarin-satau-men-damit.html> (Accessed at: 13.11.2020) [in Kazakh].
2. Abiev S.A. Zamanai mikologiya [Modern mycology]. (Evero, Almaty, 2018, 296 p) [in Kazakh].
3. Schwartzman S.R. Griby Kazahstana [Mushrooms of Kazakhstan] (Izd.AN Kaz.SSR, Alma-Ata, 1948, 40 p.) [in Russian].
4. Ivanov V.V., Kol'chenko O.T. K flore gribov Zapadnogo Kazahstana [On the flora of fungi in Western Kazakhstan] Botanicheskij zhurnal [Botanical journal]. 45(6), 903-904 (1960) [in Russian].
5. Komirnaya O.N., A.D. Fursaev. Lesnye griby lesoposadok polupustynnogo Zavolzh'ya i voprosy obrazovaniya mikorizy [Forest fungi forest half-desert of the Volga region and issues of mycorrhizal formation] Botanicheskij zhurnal [Botanical journal]. 38(3), 426-428 (1953) [in Russian].
6. Abiev S.A., Asilhanova R.Z. Kazakhstannyn uly sanyraukulaktary [Poisonous mushrooms of Kazakhstan] S.Sejfullin atyndagy Kazakh agrotekhnika lyk universitetinin Gylym Zharshysy [Herald of Science of S.Seifullin Kazakh agro technical university]. 1(92), 16-21(2017) [in Kazakh].
7. Samgina D.I. Flora sporovyh rastenij Kazahstana: Agarikovye griby [Flora of spore plants in Kazakhstan. Agaricales]. (Nauka, Alma-Ata, 1985, 273 p.) [in Russian].
8. Petrenko A.Z., Dzhubanov A.A., Fartushina M.M., Chernyshev D.M., Tubetov Z.M. Prirodno-resursnyi potentsial i proektiruemye ob'ekty zapovednogo fonda Zapadno-Kazahstanckoi oblasti [Natural and resource potential and designed projects of reserved fund of the West Kazakhstan region] (WKSU, Uralsk, 2001, 175 p.) [in Russian].
9. Adamzhanova Zh.A. K mikobiote afillorovyh gribov Pavlodarskogo Priirtysh'ya (1 chast') [To mycobiota of aphyllorphic fungi of the Pavlodar Irtysh region (part 1)] Estestvennye i tekhnicheskie nauki [Natural and technical sciences]. 6, 153-154 (2006).
10. Adamzhanova Zh.A. K mikobiote afillorovyh gribov Pavlodarskogo Priirtysh'ya (2 chast') [To mycobiota of aphyllorphic fungi of the Pavlodar Irtysh region (part 1)] Estestvennye i tekhnicheskie nauki [Natural and technical sciences]. 3, 115-117 (2010).
11. Sozdanie kollekcii i razrabotka tekhnologii vvedeniya v kul'turu vysokourazhajnyh shtammov prirodnyh s"edobnyh gribov Kazahstana: otchet o NIR (zaklyuchitel'nyj) [Creation of a collection and development of technology for introducing high-yield strains of natural edible mushrooms of Kazakhstan into the culture: research report (final)]. Evrazijskij nacional'nyj universitet im. L.N.Gumileva: rukov. Abiev S.A.; ispoln.: Asilhanova R.Z., Spanbaev A.D. [L. N. Gumilyov Eurasian National University: rukov. Abiyev S. A.; version: Asylhanova R. Z., A. D. Sanbaev] Astana, 2011. 80 s. №GR 0109RK00133. Inv. №0211RK01063. [in Russian].
12. Abyev S.A., Nam G.A., Asilchanova R.Z. S"edobnye makromicety Central'no i severo-vostochnogo Kazahstana [Edible mushrooms (macromycetes) Central and North-eastern Kazakhstan] Izvestiya Nacional'noj akademii nauk Respubliki Kazahstan. Seriya Biologicheskaya i medicinskaya. [News of Nat. Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Biological and Medical Series]. 5(299), 16-21 (2013).
13. Asilhanova R.Z. S"edobnye makromicety GNPP Kokshetau [Edible macromycetes SNNP (State National Natural Park) Kokshetau] «Valihanovskie chteniya-17»: Sbornik materialov Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii ["Valikhanov Readings-17": Collection of materials of the International Scientific and Practical Conference]. Kokshetau, 2013. pp. 118-121.
14. Asilhanova R.Z. S"edobnye makromicety GNPP Karkaraly [Edible macromycetes SNNP (State National Natural Park) Karkaraly] Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva [Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University], 2(93), 213-216 (2013). [In Russian].

15. Asilhanova R.Z. S"edobnye makromicety GNPP Bayanauy [Edible macromycetes SNNP (State National Natural Park) Bayanauy] Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva [Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University], 6(97), 335-33 (2013).

16. Abyev S.A., Asilchanova R.Z., Alyeva G.B., Tagabaeva A. Ortalyk zhane soltustik-shygys Kazakstannyn ajryksha korgalatyn tabigi ajmaktarynyn afilllofora sanyraukulaktary: turlik zhane taksondyk kuramy, bagaly turlerinen shtamdar kollekciasyn zhasau zhane molekulylyk-gendik verifikaciyalau [Aphylophorales mushrooms specially protected natural territories central and north-eastern Kazakhstan species and taxonomic composition, creating a collection of strains valuable species and their molecular genetic identification] Izvestiya Nacional'noj akademii nauk Respubliki Kazahstan. Seriya Biologicheskaya i medicinskaya. [News of Nat. Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Biological and Medical Series], 3(309), 148-153 (2015). [in Kazakh].

17. Abiev SA, Shnyreva AV, Nam GA, Asilkhanova RZ, Abisheva G. S"edobnye griby poryadka Agaricales osobo ohranyaemyh prirodnyh territorij central'nogo i severo-vostochnogo kazahstana: sozdanie kollekcii shtammov i ih molekulyarnaya identifikaciya [Edible fungi of the order Agaricales of specially protected natural territories of central and north-eastern Kazakhstan: the creation of a collection of strains and their molecular identification] Izvestiya Nacional'noj akademii nauk Respubliki Kazahstan. Seriya Biologicheskaya i medicinskaya. [News of Nat. Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Biological and Medical Series]. 3(309), 154-161 (2015). [in Russian].

18. Asilchanova Roza, Abiev Sardarbek, Alla V. Shnyreva. Molecular identification of some edible mushrooms (order: Agaricales) from Central and North-Eastern Kazakhstan. USA Biology and medicine Journal. 7 (2), 2-7 (2015).

19. Abyev S.A., Asilhanova R.Z., Sarsekova D. N., Kuanyshbaev N. Morfologiyalyk belgileri negizinde identifikaciyalangan Pleurotus Pulmonarius (Fr.) Quel sanyraukulagynyn molekulylyk verifikaciyasy [Molecular identification of the fungus Pleurotus Pulmonarius (Fr.) Quel, identified on the basis of morphological features] Bulletin of Science of KAZATU named after S. Seifullin [Herald of Science of S.Seifullin Kazakh agro technical university]. 2 (89), 4-11 (2016) [in Kazakh].

20. Abiev S.A., Asilchanova R.Z., Abeuova Sh.M. Agarikoidty sanyraukulaktardyn tabigi populyaciyasynan bolinip alyngan kul'turalardy morfobiologiyalyk zertteu zhane uzak saktau maseleleri [Microbiological testing and methods of long-term storage agaricoid fungi isolated from natural populations] Vestnik Evrazijskogo nacional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva [Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University]. 4 (113), 9-17 (2016) [in Kazakh].

21. Fedorenko VA 2019 – Annotated checklist of Basidiomycota new to Republic of Kazakhstan. Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology) 9(1), 271–287. DOI: 10.5943/cream/9/1/23.

22. Sarsekova D., Ayan S., Talgat A. Ectomycorrhizal Flora Formed by Main Forest Trees in the Irtys River Region of Central and Northeastern Kazakhstan. South-east Eur. For. 11(1), 61-69 (2020). DOI: <https://doi.org/10.15177/seefer.20-06>.

Авторлар туралы мәлімет:

Абиев Сардарбек Абиевич - биология ғылымдарының докторы, профессор, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Дарбаева Талшен Есеномановна - биология ғылымдарының докторы, профессор, М.Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті, Н.Назарбаев даңғ. 162, Орал, Қазақстан.

Сарсенова Асемгүль Нурсайновна - 8Д05107 - «Биология» білім бағдарламасының 3-курс докторанты, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Abiev Sardarbek Abievich - Doctor of Biological Sciences, Professor, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Darbayeva Talshen Esenomanovna - Doctor of Biological Sciences, Professor, Makhambet Utemisov West Kazakhstan University, 162 N. Nazarbayev str., Uralsk, Kazakhstan.

Sarsenova Assemgul Nursainovna - Ph.D. student in Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Иммунобиотехнологические методы определения антибиотиков в продуктах питания

Аннотация. В ветеринарной практике применяется большой перечень антибиотиков в качестве лечебных или профилактических средств. Некоторые из них используются как стимуляторы роста и продуктивности животных. Однако несоблюдение правил применения антибиотиков и/или сроков выдержки забоя животных или получения молока приводят к поступлению остаточного количества препаратов в организм человека с продуктами питания, которые могут вызывать различные патологии. В статье представлен обзор научных работ, опубликованных в рецензируемых научных журналах с 2015 года по настоящее время по разработке и совершенствованию методов исследования молока и мяса на содержание антибиотиков. На основе обзора литературы и результатов собственных исследований автор статьи отмечает преимущества вариантов иммуноферментного анализа (ИФА) перед инструментальными аналитическими методами, такими как жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией и высокоэффективная жидкостная хроматография. Тем не менее, ИФА-наборы из-за сложности процедуры анализа не находят применения в лабораториях пищевой безопасности Республики Казахстан и других стран СНГ. В этой связи в обзорной статье обсуждаются состояние и перспективы разработки простых экспресс-тестов для определения предельно допустимого количества (ПДК) антибиотиков в продуктах животноводства, основанных на использовании иммунохроматографического анализа (ИХА). Такие тесты, не уступая по своей чувствительности ИФА и превосходя его по себестоимости, могли бы быть использованы не только в лабораторных условиях, но и непосредственно потребителями продуктов питания, что будет способствовать надежной защите здоровья населения и развитию животноводства.

Ключевые слова: антибиотик, молоко, мясо, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-35-50

Введение

В настоящее время в ветеринарной практике используется широкий спектр противомикробных веществ в качестве терапевтических и/или профилактических препаратов. Кроме того, отдельные из них, в частности антибиотики, применяются как стимуляторы роста. Для повышения эффективности откорма рекомендовано добавление в корма антибиотиков в малых дозах. Однако несоблюдение правил применения антибиотиков может привести к образованию остаточного количества препаратов в продуктах животноводства, которые при употреблении в пищу могут вызывать различные побочные эффекты (например, аллергию, нефропатию, поражение печени, репродуктивные нарушения, перенос устойчивых к антибиотикам бактерий человеку, токсичность для костного мозга, развитие раковых болезней и др.) [1]. Кроме того, антимикробные препараты зачастую угнетают микрофлору желудочно-кишечного тракта, приводят к снижению естественной резистентности и, как следствие, развитию заболеваний. В этой связи весьма важно не только регулировать, но и контролировать использование антибиотиков в животноводстве и ветеринарии. Качественный и количественный анализ антибиотиков необходим для обеспечения безопасности пищевых продуктов и борьбы с незаконным и чрезмерным использованием ветеринарных препаратов. Острота проблемы вынуждает отдельные страны выступать за сокращение использования антибиотиков и

разработку новых альтернативных средств, чтобы минимизировать вред, причиняемый остатками лекарственных веществ [2].

Антимикробные препараты вводятся животным тремя путями: с кормом, перорально или путем инъекции. В теле животных они метаболизируются, однако определенная часть остается в органах, а другая - попадает в окружающую среду с экскрементами и переходит в ткани растений, загрязняет водоисточники и тем самым находит дополнительный путь для проникновения в организм человека. Для защиты здоровья и безопасности потребителей Европейский Союз (ЕС) установил предельно допустимые количества (ПДК) для лекарственных препаратов в продуктах питания [3]. Среди контаминантов продуктов питания важное место занимают антибиотики из классов макролидов (МЛ), тетрациклинов (ТЦ), аминогликозидов (АГ), бета-лактамов (БЛ) и амфениколов (АФ).

Традиционные методы обнаружения антибиотиков в пищевых продуктах включают микробиологические методы, которые не обладают достаточной чувствительностью, специфичностью и точностью. Более того, они являются трудоемкими, длительными по выполнению и требуют обученных специалистов-бактериологов. При этом полученные результаты носят качественный или полуколичественный характер, а их достоверность в значительной степени зависит от стабильности и физиолого-биохимических характеристик тест-штаммов микроорганизмов [4]. Инструментальные аналитические методы, включая жидкостную хроматографию с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС) и высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), характеризуются высокой точностью, специфичностью и чувствительностью, и используются как эталонные методы [5]. Эти сложные и дорогостоящие исследования с привлечением высококвалифицированного персонала выполняются лишь в отдельных специализированных лабораториях и не могут быть использованы для мониторинга безопасности продукции животноводства. Например, в Республике Казахстан (РК) определение остатков запрещенных и вредных веществ в продуктах животноводства и кормах с применением ЖХ-МС осуществляется лишь Национальным референтным центром по ветеринарии МСХ РК. Следовательно, ветеринарная практика остро нуждается в альтернативных скрининговых экспресс-тестах, позволяющих в условиях обычной лаборатории пищевой безопасности за короткое время провести контроль молока и/или мяса на антибиотики.

В настоящее время для выявления антибактериальных препаратов в продуктах питания взамен инструментальным технологиям все большее распространение получают варианты иммуноферментного анализа (ИФА). В США и Японии данная иммунологическая реакция уже является основным скрининговым тестом для определения ПДК антибиотиков в продуктах питания. ИФА, как быстрый и высокочувствительный метод, характеризующийся высокой воспроизводимостью, рекомендован директивой ЕС 2002/657 для определения остаточных количеств ветеринарных препаратов в продуктах животноводства [6].

Основная часть

На сегодняшний день на рынке ветеринарных препаратов имеются ИФА-наборы для определения отдельных антибиотиков, тем не менее продолжают научные работы по разработке новых тест-систем. Нами были разработаны ИФА-тесты для обнаружения остаточного количества окситетрациклина (ОТЦ), стрептомицина (СТР) и хлорамфеникола (ХАФ) в молоке и мясе, основанные на конкуренции свободного антибиотика исследуемой пробы и антибиотика, «посаженного» на твердую фазу планшеты в составе белка-носителя – бычьего сывороточного альбумина (БСА), за связывания со специфическими антителами [7]. В качестве последних были испытаны моноклональные антитела (МКА), продуцируемые штаммами мышийных гибридом, против эпитопов СТР, ХАФ и/или ОТЦ (рис.1).

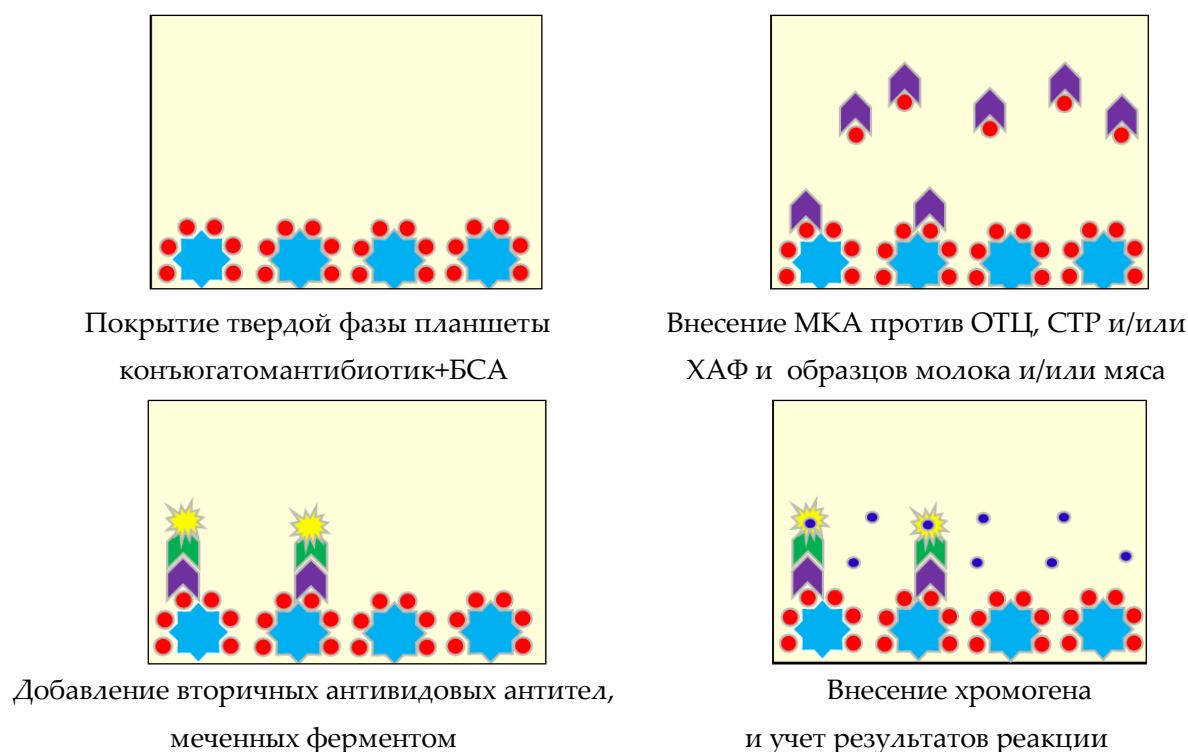


Рисунок 1. Схема постановки конкурентного ИФА для обнаружения в продуктах животноводства СТР, ХАФ и ОТЦ

После отделения несвязавшихся реагентов количество МКА, прореагировавших с адсорбированным антигеном, определяли с помощью вторичных антивидовых антител, меченных ферментом. При этом количество антибиотика, содержащегося в исследуемом образце, находилось в обратной корреляции с показателями оптической плотности реакционной жидкости. Диагностическая ценность опытных образцов ИФА-тестов была испытана на 200 пробах молока и 150 образцах мяса в сравнении с коммерческими аналогами фирмы R-Biopharm (Германия): RIDASCREEN® Chloramphenicol, RIDASCREEN® Streptomycin и RIDASCREEN® Tetracyclin. Образцы продуктов были взяты из продовольственных рынков Акмолинской и Карагандинской областей РК и подготовлены к исследованию с помощью отработанных нами методов, которые могут быть использованы в условиях обычной производственной лаборатории. Как показали результаты сравнительного анализа, чувствительность отечественного теста при исследовании образцов молока и мяса на наличие ОТЦ, ХАФ и СТР была достаточно высокой и составляла 80%, 100, 100% и 100%, 89%, 100%, соответственно.

L. An et al. (2016) описали метод непрямого конкурентного ИФА (нкИФА) на основе МКА для обнаружения флорфеникола (ФФ) и тиамфеникола (ТАФ) в съедобных тканях животных и кормах с целью мониторинга незаконного использования указанных антибиотиков [8]. МКА, имея высокую специфичность к антибиотикам, позволяли выявлять наличие ФФ и ТАФ до концентрации 0,21 мкг/л и 0,35 мкг/л соответственно. Предельно обнаруживаемые количества (ПОК) антибиотиков в мышечной ткани составляли от 0,07 до 0,14 мкг/кг, а в кормах - от 2,9 до 5,2 мкг/кг. Исследователями установлена тесная корреляция между результатами нкИФА и ВЭЖХ, что позволило им сделать заключение о возможности использования нкИФА для контроля мяса и кормов на содержание ФФ и ТАФ. Авторы также отмечают простоту методов, использованных для подготовки образцов к исследованию в нкИФА.

Сравнительные исследования методов ИФА и ВЭЖХ с ультрафиолетовым (УФ) детектированием при анализе 450 образцов мяса крупного рогатого скота (КРС), мелкого рогатого скота (МРС), птиц, а также сырого молока на содержание ТЦ были выполнены

K. Bahmani et al. (2020) [9]. По данным авторов, показатели извлекаемости четырех групп ТЦ составляли 72-100%, а ПОК антибиотиков в пробах мяса и сырого молока находились в пределах 3,7–9,0 мкг/кг. ИФА не уступал ВЭЖХ-УФ по точности, однако этапы подготовки образцов у иммуноанализа были более простыми и соответствовали требованиям, предъявляемым директивой ЕС [6].

Важным преимуществом вариантов ИФА перед инструментальными аналитическими методами является то, что они не требуют дорогостоящего аналитического оборудования, упрощают этапы подготовки исследуемых образцов и значительно сокращают продолжительность всего анализа [10-12]. Использование ИФА для обнаружения антибиотиков в продуктах животноводства установлено нормативными документами Российской Федерации (РФ) и РК. Так, Федеральной службой РФ по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека утверждены методические указания «МУК 4.1.2158-07: Определение остаточных количеств антибиотиков тетрациклиновой группы и сульфаниламидных препаратов в продуктах животного происхождения методом ИФА» и «МУК 4.1.1912-04: Определение остаточных количеств левомицетина (хлорамфеникола, хлормицетина) в продуктах животного происхождения методом ВЭЖХ и ИФА». Эти нормативные документы устанавливают использование промышленно изготовленных наборов, метрологические характеристики которых не ниже ИФА-наборов компании RIDASCREEN®. «Казстандартом» РК установлено использование ИФА-наборов в соответствии с методикой выполнения измерений «Сырье продовольственное. Продукты питания животного происхождения. Методика выполнения исследований (МВИ) ИФА антибактериальных препаратов» (регистрационный номер в реестре государственной системы измерений KZ.07.00.03642-2017). Однако оснащенность лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы на продовольственных рынках РК и стран Содружества не позволяют проводить анализы мяса и молока на остаточные количества антибиотиков с применением вышеуказанных нормативных документов. В этой связи весьма важно вести исследования по разработке других альтернативных методов, которые, не уступая ИФА по своей чувствительности, позволяли бы в течение 5-10 мин. оценить результаты в полевом (*pointofcare*) режиме без использования дополнительного оборудования или портативных устройств. Среди них особое внимание заслуживает процедуры, основанные на иммунохроматографическом анализе (ИХА).

ИХА – это технология, сочетающая принципы иммунологических реакций и хроматографии. Простой дизайн данного анализа состоит из нитроцеллюлозной мембраны, подушечек для образца, конъюгата и абсорбирования. На нитроцеллюлозной мембране готовят тестовые и контрольные линии. Образец, нанесенный на подушечку для образца, начинает мигрировать вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии. Далее сигнальные метки на конъюгатной подушке (меченое антитело или антибиотик) растворяются и вступают в реакцию с мишенью (антибиотиком или антителом). Комплекс, состоящий из сигнальных меток и мишени, перемещается в область иммобилизованного антибиотика или антитела за счет капиллярной силы и улавливается (накапливается) в тестовой линии, где качественный или количественный анализ может быть проведен по истечении нескольких минут невооруженным глазом или счетчиком тест-полосок соответственно.

Прямой- и/или конкурентный анализ – это два основных формата, обычно используемых в ИХА (рис.2).

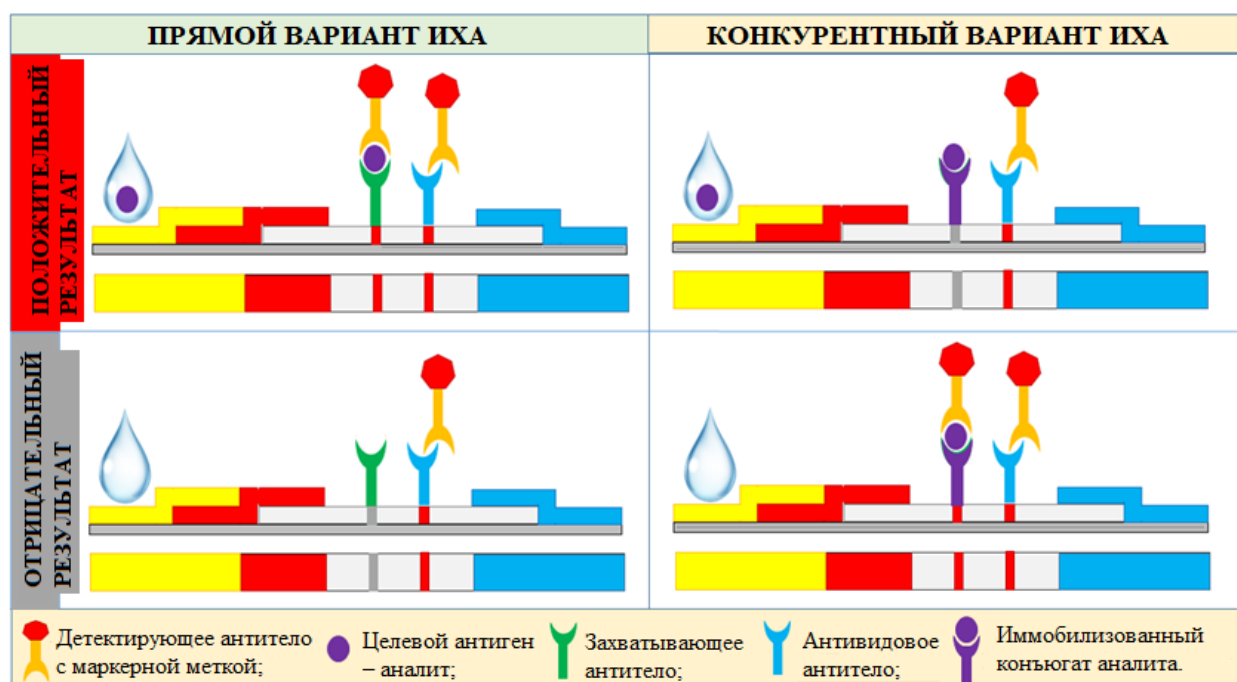


Рисунок 2. Принципы постановки прямого и конкурентного вариантов ИХА

Прямой или «сэндвич» формат используется для обнаружения высокомолекулярных молекул или мишеней с несколькими антигенными эпитопами. Как правило, в этой системе используется пара специфических антител, где захватывающее антитело иммобилизовано на тестовой линии, а детектирующее антитело конъюгируется с маркерной меткой (например, коллоидным золотом). При нанесении исследуемого образца на тест-полоску образуется комплекс: «детектирующее меченное антитело + целевой антиген + захватывающее антитело», который фиксируется на тестовой линии в ходе миграции реакционной жидкости. Обнаруживаемая реакция на тестовой линии прямо пропорциональна количеству мишени (целевого антигена) в исследуемом образце. Конкурентный анализ используется для обнаружения низкомолекулярных молекул или мишеней с единичными антигенными эпитопами, такими как антибиотики и микотоксины. В этом формате комплекс мишень + носитель иммобилизуется на тестовой линии, чтобы конкурировать с целевыми антигенами в образцах за связывание меченных антител. В данном случае обнаруживаемая реакция на тестовой линии будет обратно пропорциональной концентрации мишени в исследуемой пробе.

В настоящее время ИХА, как быстрый, простой и экономичный метод, вызывает растущий интерес исследователей, занимающихся совершенствованием методов определения различных контаминантов в молоке и мясе. В наших предыдущих исследованиях был разработан ИХА тест-полоска для обнаружения ивермектина в продуктах животноводства [13, 14]. Использование конъюгата МКА с коллоидным золотом и кроличьих поликлональных антител (ПКА) в качестве реагента тестовой линии позволило нам определить в течение 5-7 мин. содержание антгельминтика до конечной концентрации 3,75 нг/мл. Данный порог чувствительности находится на границе ПДК ивермектина в молоке, но ниже, чем ПДК мясных продуктов. Поэтому для анализа образцов мяса на содержание антгельминтика необходимо было снизить чувствительность теста до 10 нг/мл. Для этой цели нами была сконструирована ИХА тест-система с дополнительным элементом - конкурирующей линией (рис.3).

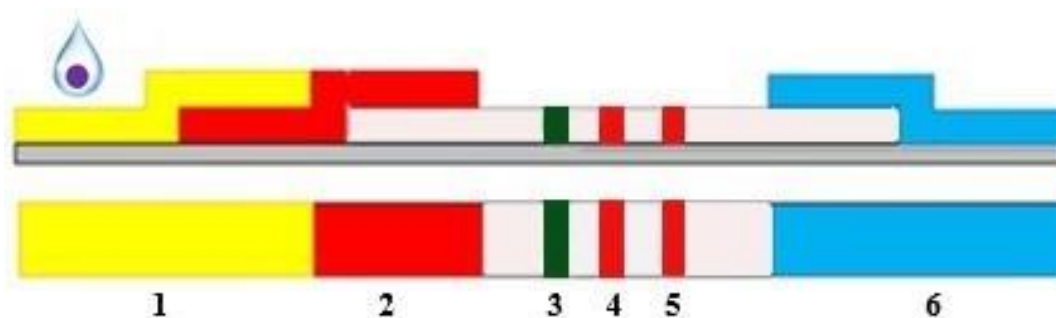


Рисунок 3. Устройство тест-полоски ИХА для обнаружения ивермектина в мясе, содержание которого превышает ПДК:

1-подушка для образца; 2-подушка для конъюгата; 3- конкурирующая линия; 4-тест-линия; 5-контрольная линия; адсорбирующая подушка

Конкурирующую линию формировали из тех же МКА, использованных для приготовления конъюгата. Эта линия была включена в тест-систему с одной целью – снизить чувствительность анализа за счет конкурентного связывания аналита с иммобилизованными в ней МКА. Как и следовало ожидать, использование конкурирующей линии привело к снижению аналитической чувствительности ИХА-теста до 15 нг/мл (рис.4).

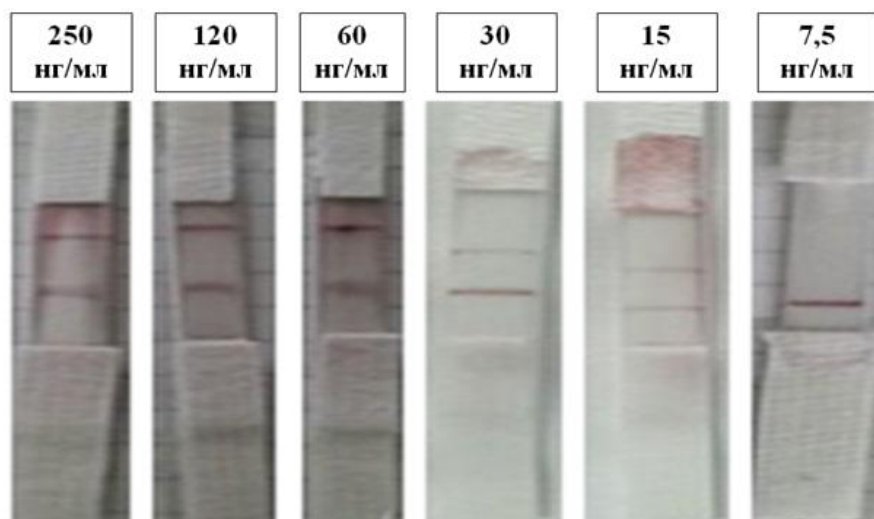


Рисунок 4. Чувствительность ИХА тест-система с конкурирующей линией для обнаружения ПДК антгельминтика

Поскольку ПДК ивермектина в мясных продуктах составляет не более 10-15 нг/мл, то чувствительность предлагаемого нами варианта постановки ИХА-теста позволяет проводить исследование продуктов животноводства на остаточное количество антгельминтика.

В настоящее время в мировой литературе можно найти ряд исследований по разработке различных вариантов ИХА для детекции антибиотиков в пищевых продуктах. Так, цветные латексные наночастицы использовались С. Wang et al. (2017) в мультиплексном ИХА для одновременного обнаружения остатков трех антибиотиков в молоке. Тест-полоска позволила достичь количественного определения с пороговыми значениями 5,0; 3,5; и 1,25 нг/мл для хинолона, ТЦ и сульфонамида соответственно [15].

L. Naik et al. (2017) для скрининга остаточного количества ОТЦ в молоке испытали полуколичественный конкурентный формат ИХА [16]. Приготовленные наночастицы золота (НЧЗ) были использованы как маркеры в ИХА. Специфичность очищенных кроличьих анти-ОТЦ антител определялась в ИФА. Авторами были оптимизированы мембранные компоненты,

необходимые для исследования молока на наличие антибиотиков, стандартизированы методы получения стабильного конъюгата НЧЗ с анти-ОТЦ антителами. Антибиотик, связанный с белком-носителем, наносился на тестовую линию, а видоспецифичное вторичное антитело - на контрольную линию мембранного матрикса. Валидацию теста проводили путем добавления ОТЦ к образцам молока, не содержащим антибиотиков, и результаты анализа определяли в течение 5 минут без использования какого-либо оборудования. Предел визуального обнаружения составлял 30 нг/мл.

В работах других исследователей [17,18] изучалась возможность определения антибиотиков в молоке с помощью прямого метода ИХА, где специфические антитела конъюгировались с НЧЗ. О. Hendrickson et al. (2020) были разработаны тест-системы для определения неомицина (НЕО) не только в молоке, но и образцах мяса индейки, куриного яйца и мёда [19]. Новизна предлагаемого метода основана на новом подходе введения маркера, а именно: на конъюгации НЧЗ не со специфическими антителами, как в прямых вариантах ИХА, а с антивидовыми. Ранее этими же исследователями была доказана более высокая чувствительность непрямого ИХА по сравнению с его непрямым вариантом [20, 21]. По данным авторов предлагаемая тест-система, основанная на легкодоступной и стабильной золотой метке, значительно повышает чувствительность анализа. Достоинством метода является то, что необходимые компоненты для обнаружения различных пищевых контаминантов могут быть приготовлены без дополнительных синтезов, поскольку маркировка специфических антител в данном варианте иммуноанализа не требуется. Новый вариант ИХА обнаруживал НЕО в пищевых продуктах в течение 15 минут с ПОК равным 0,1-10 нг/мл. Тест-полоска показывала незначительную перекрестную реактивность с антибиотиками из своего и других протестированных классов. Следует отметить, что при использовании данного теста пробоподготовка не потребовалась для молока и была достаточно проста для экстракции антибиотика из мяса, яиц и мёда.

J. Peng et al. (2016) разработали ИХА-тест для одновременного скрининга пяти антибиотиков в молоке, а именно: линкомицина (ЛИН), гентамицина (ГЕН), канамицина (КАН), СТР и НЕО с использованием соответствующих МКА, конъюгированных с НЧЗ [18]. Конъюгаты антибиотиков были иммобилизованы на отдельных тестовых линиях для выявления их мечеными МКА. При использовании теста пороговые значения антибиотиков были равны 25 нг/мл для ЛИН и ГЕН, 50 нг/мл для КАН и СТР и 100 нг/мл для НЕО и были ниже ПДК, установленных ЕС. В случае использования счетчика мультиплексная полоска позволяла обнаруживать антибиотики на уровне 2,5-5 нг/мл в молоке. Точность и воспроизводимость анализа подтверждались и на образцах пищевых продуктов. Авторы заключают о возможности использования данного формата ИХА для быстрого и одновременного скрининга нескольких антибиотиков в продуктах питания в полевых условиях.

В постсоветском пространстве для определения остаточных количеств антибиотиков и лекарственных препаратов в молоке разработан ГОСТ 32254-2013: Межгосударственный стандарт «Молоко» (Армения, Молдова, РФ, Узбекистан). Стандарт устанавливает требования ИХА-тестам для экспресс-определения пенициллина (ПЕН), ТЦ, ХАФ, СТР, сульфаниламидов в сыром и термически обработанном молоке, а также описывает метрологические и технические характеристики, необходимые для экспресс-анализа указанных антибиотиков в молоке. Кроме того, имеется ГОСТ 32219-2013: Межгосударственный стандарт «Молоко и молочные продукты» (Армения, Беларусь, Киргизия, РФ, Узбекистан), разработанный с учетом основных нормативных положений международного стандарта ISO 18330:2003 "Молоко и молочные продукты ("Milk and milkproducts - Guidelines for the standardized description of immunoassays or receptor assays for the detection of antimicrobial residues "). Стандарт распространяется на сырое, пастеризованное, стерилизованное и предварительно восстановленное сухое молоко и устанавливает качественные иммунологические методы определения БЛ, ТЦ, ХАФ и СТР с использованием ИХА-наборов производителей из стран дальнего зарубежья: "Delvotest BLF" (Нидерланды), "Twinsensor" (Бельгия), PROQUI-TEST 4" (Испания), "Betastar 4D" (США).и др. Стандарт допускает

использование и других тестов с техническими характеристиками и метрологическими характеристиками не ниже рекомендуемых. Институтом биоорганической химии НАН Беларуси разработаны ИХА-наборы для обнаружения ТЦ и БЛ (Продоскрин Лактест-2) и ТЦ, БЛ, ХАФ и СТР (Продоскрин Лактест-4), имеющие пределы чувствительности, соответствующие нормативам, установленным ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» [22]. Таким образом, в мониторинговых исследованиях молока на остаточные количества антибиотиков практическая ветеринария стран СНГ отдает предпочтение ИХА-тестам, которые просты в использовании и дешевле по сравнению с ИФА-наборами. Например, средняя стоимость одного анализа с использованием ИФА-наборов составляет 3000 - 3700 тенге [23], что значительно выше, чем у ИХА - наборов: 1357-1378 тенге [24,25].

Современные подходы, применяемые для дальнейшего совершенствования ИХА-тестов для мониторинга опасных веществ в молоке, весьма разнообразны. Среди них наибольший интерес представляют разработки, основанные на применении люминесцентных (ЛНЧ) и/или магнитных наночастиц (МНЧ), ферментов и нанозимов - наночастиц, имитирующих природные ферменты.

Флуоресцеинаизотиоцианат – это типичный флуоресцентный зонд, который может поглощать ультрафиолетовые лучи или синий свет и излучать видимый желто-зеленый свет. W. Sheng et al. (2017) применили ИХА на основе окрашенных полимерных микросфер в качестве меток для обнаружения энрофлоксацина (ЭНР) [26]. Чувствительность этого анализа составляла 1 мкг/л в забуференном физиологическом растворе (ЗФР) и 10 мкг/л в молоке. Некоторые комплексы, которые встречаются в молоке, такие как витамин А, триптофан, тирозин, фенилаланин и рибофлавин, могут флуоресцировать при соответствующей длине волны возбуждения в процессе проверки качества молока. Этот феномен, по мнению M. Brandao et al. (2017), может привести к снижению чувствительности обнаружения флуоресценции с использованием обычных хромофоров [27]. Авторы считают, что разработка долгоживущих зондов распада для ИХА может минимизировать влияние флуоресценции молока на чувствительность анализа. С этой точки зрения, хелаты лантаноидов (например, европия, тербия, самария, диспрозия), представляющие собой класс люминесцентных материалов, привлекают все большее внимание из-за их длительности флуоресценции, острых спектров излучения, больших стоксовых сдвигов и низкого фона флуоресцентной интерференции.

Флуоресцентный ИХА был разработан для обнаружения афлотоксина (AFM1) в молоке [28]. Чувствительность теста составляла 0,03 нг/мл, что в 10 раз выше, чем чувствительность анализа на основе НЧЗ. Для обнаружения следов AFM1 в сыром молоке был разработан модифицированный двухэтапный ИХА [29]. В отличие от традиционного ИХА, в данном формате использовались два вида МНЧ. Один из них, с высокой концентрацией антител, использовался для захвата AFM1 в тестируемом образце, тогда как другой с низкой концентрацией антител - для принятия решения по результатам теста. В работе были исследованы такие критические факторы, как концентрация антител в МНЧ и их размеры. Двухэтапный анализ показал идеальную чувствительность для скрининга следов AFM1 в образцах молока без дополнительной предварительной обработки образцов. Пороговое значение для невооруженного глаза составляло 0,02 мкг/л и соответствовало ПДК AFM1 в сыром молоке и молочных продуктах. Чувствительность двухэтапного ИХА была увеличена примерно в 25 и 50 раз по сравнению с традиционным форматом на основе МНЧ и/или НЧЗ соответственно. Учитывая увеличение интенсивности сигнала в зоне захвата по мере накопления МНЧ, L. Yan et al. (2018) разработали ИХА с усиленным сигналом за счет двойных МНЧ для мониторинга остатков фуразолидона в молоке [30]. Усилению сигнала способствовало образование двухзондовых сетевых комплексов. ПОК анализа составляло 0,044 нг/мл в сухом обезжиренном молоке, что в 10 раз выше, чем у ИХА/НЧЗ.

Y. Chen et al. (2016) сконструировали ИХА на основе ближней инфракрасной флуоресценции для мультиплексного экспресс-обнаружения (в течение 20 мин) остатков антибиотиков в молоке 4 классов: БЛ, ТЦ, хинолонов и сульфаниламидов с чувствительностью 8, 2, 4 и 8 нг/мл, соответственно [31].

J. Zhou et al. (2018) создали квадруплексный ИХА с использованием НЧЗ для обнаружения в молоке остатков антибиотиков четырех классов. НЧЗ, меченные бычьим сывороточным альбумином, распыляли на контрольную линию с целью уменьшения ошибок анализа путем расчета относительной оптической интенсивности [32]. Для радиометрического количественного анализа диапазоны обнаружения ПЕН, ТЦ, СТР и ХАФ в молоке составляли 0,13-1,0; 0,13-8,0; 0,78-25,0 и 0,019-1,2 нг/мл соответственно.

На рынке ветпрепаратов для определения остаточных количеств антибиотиков в мясе и мясных продуктах предлагаются те же ИФА-наборы, предназначенные для исследования молока и других видов продуктов животноводства [23, 33]. Исследование мяса на остаточные количества антибиотиков представляет собой более сложную задачу, чем анализ молока, т.к. мясо представляет собой сложную матрицу, состоящую из нескольких веществ, таких как вода (72% - 75%), азотистые соединения (примерно 21%, включая белки и небелковые азотистые соединения) и липиды (2,5% - 15%) [34]. Такое разнообразие веществ очень затрудняет анализ образцов мяса на антибиотики. Поэтому следует применить различные методы подготовки образцов, чтобы удалить нежелательные компоненты из тканей мяса. Следовательно, необходимы исследования по разработке быстрых, недорогих, надежных, воспроизводимых, селективных и чувствительных процедур экстракции антибиотиков из мяса. Эти методики должны устранить все помехи и обеспечить эффективную экстракцию антибиотиков из мышечной ткани и высокие коэффициенты концентрирования. Другими словами, нужны новые методы подготовки образцов, включающие этапы экстракции, очистки и обогащения антибиотиков в образцах мяса в сочетании с чувствительными тестами. Подробный анализ и обсуждение текущей тенденций и возможных будущих перспектив в этой сфере исследований читатели могут найти в обзорах A. Moga et al. (2021) [35] и B. Wang et al. (2021) [36]. Отсутствие коммерческих ИХА-наборов для определения остаточных количеств антибиотиков в мясе и мясных продуктах объясняется отчасти трудностью извлечения антибиотиков из мышечной ткани и подготовкой образцов к исследованию. Ниже приведены результаты некоторых исследований, посвященные разработке ИХА-тестов для контроля мяса и мясных продуктов на антибиотики.

Y. Wu et al. (2016) описали экспресс-ИХА для одновременного обнаружения остатков ЭНР и офлоксацина (ОФЛ) в куриных мышцах и свинине [37]. ИХА представлял собой одностадийный анализ, не требующий профессионального персонала и экспериментальных инструментов. Предел принятия решения (СС α) для тест-полоски был равен 0,089 нг/мл, а способность обнаружения (СС β) с помощью сканера - 0,217 нг/мл. Предел обнаружения составил 10 нг/мл. Степень совпадения результатов ИХА и ВЭЖХ достигала 100% при концентрации ЭНР и ОФЛ более 10 нг/мл. Разработанная тест-полоска обладала высокой специфичностью и позволяла получать результат в течение 20 мин без помощи специального оборудования.

Непрямой конкурентный варианты ИФА и ИХА были испытаны D. Mukunzi et al. (2018) для обнаружения остатков фторхинолона (ФХ) в образцах мышц курицы с применением МКА против пefлоксацина (ПЕФ) [38]. В оптимизированных условиях МКА показали приемлемую перекрестную реактивность с девятью ФХ с пределом обнаружения 0,082 нг/мл. Значения визуального пограничного значения (cut-off) для тест-полосок в растворе 0,01М ЗФР и образцах мяса находились в пределах 2,5-50 нг/мл и 5-100 мкг/кг соответственно. Эти результаты показывают, что методы ИФА и ИХА на основе МКА против ПЕФ вполне подходят для одновременного обнаружения и рутинного мониторинга остатков ФХ в курином мясе.

J. Wang et al. (2019) сообщают о хорошей специфичности, чувствительности, стабильности и надежности одноэтапного ИХА/НЧЗ и нкИФА при выявлении колистина в кормах и продуктах животного происхождения [39]. Продолжительность исследования образцов в нкИФА не превышала 60 мин, тогда как время анализа в ИХА составляло менее 15 мин. Авторами сделан вывод о том, что эти два иммуноанализа можно выборочно использовать для быстрого мониторинга незаконного использования антибиотика в кормах и остатков колистина в продуктах животноводства.

Чувствительность и специфичность ИХА в основном зависят от специфичности антител, наноматериалов и методов метки антител/антигенов. По данным X. Dong et al. (2019), наночастицы европия, конъюгированные с козьими антителами к мышинному IgG, могут детектировать специфически и мультплексно синтетические антибиотики 1-аминогидантоин, 3-амино-2-оксазолидинон, семикарбазид и 3-амино-5-морфолинометил-1,3-оксазолидинон, запрещенные ЕС с 1995 г [40]. Используемый формат ИХА позволял исследователям одновременно обнаруживать невооруженным глазом метаболиты, добавленные в образцы рыбы, в течение 10 минут. Пределы обнаружения вышеуказанных антибиотиков составляли 0,05; 0,1; 0,1 и 0,2 нг/г соответственно. Авторы заключают, что разработанный иммуноанализ является высокоэффективным инструментом для скрининга метаболитов нитрофурана в образцах рыб и рыбной продукции.

Как видно из вышеприведенного анализа источников литературы, НЧЗ являются наиболее часто используемыми сигнальными материалами в ИХА. Однако чувствительность ИФА/НЧЗ обычно ограничивается неполной конкуренцией между свободными целевыми аналитами и иммобилизованными антигенами за связывание антител, меченных НЧЗ. Для того чтобы снять это ограничение, L. Su et al. (2021) синтезировали асимметричные наночастицы Au-SiO₂ (НЧАu-SiO₂) [41]. Последние сочетают два разных физико-химических свойства на своих противоположных сторонах, где сторона НЧАu в основном обладает функциями конъюгирования антител и обеспечения сигнала, а сторона SiO₂ в первую очередь обеспечивает стабильную функцию. Благодаря уникальной асимметричной наноструктуре только сторона НЧАu может взаимодействовать с целевыми аналитами посредством специфических взаимодействий антиген-антитело, что может значительно повысить эффективность конкуренции. Биосенсор иммуноанализа показал предел обнаружения фуразолидона, равный 0,08 нг/мл, что в 10 раз ниже, чем у ИХА, в котором в качестве сигнального материала использовались НЧЗ. Кроме того, ИХА/НЧАu-SiO₂ показал хорошие результаты при исследовании образцов продуктов питания (курица, свинина, мед и говядина) с пределами визуального обнаружения 0,8 нг/г; 0,16 нг/г; 0,4 нг/мл и 0,16 нг/г соответственно. Асимметричные наночастицы НЧАu-SiO₂ обладали преимуществами обоих материалов, что расширяет возможность их применения в качестве потенциальной альтернативы в быстром и чувствительном обнаружении остатков антибиотиков.

Выводы

Таким образом, анализ научной литературы показывает возможность создания и дальнейшего совершенствования простых в исполнении, но достаточно чувствительных и специфичных иммунобиотехнологических тест-систем на основе различных вариантов ИХА, позволяющих за несколько минут определить остаточные количества антибиотиков в образцах молока и мяса.

Новые методы аналитического контроля и мониторинга безопасности пищевой продукции станут не только надежным звеном в охране здоровья населения, но и будут способствовать росту экспортного потенциала страны-разработчика, что в свою очередь положительно отразится на развитии животноводства.

Благодарность. Работа была выполнена в рамках реализации научно-технической программы BR10764944: «Разработка методов аналитического контроля и проведения мониторинга безопасности пищевой продукции» на 2021-2023 гг., финансируемой МСХ РК.

Список литературы

1. Bacanlı M., Basaran N. Importance of antibiotic residues in animal food // *Food Chem Toxicol.* - 2019. - V.125. - P.462-466.
2. Wang B., Xie K., Lee K. Veterinary Drug Residues in Animal-Derived Foods: Sample Preparation and Analytical Methods // *Foods.* - 2021. - V. 10. - P. 555.
3. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/mrl/regpdf/2001_04_25-0807_en.pdf.
4. Wu Q., Peng D., Liu Q., et al. A novel microbiological method in microtiter plates for screening seven kinds of widely used antibiotics residues in milk, chicken egg and honey. // *Front Microbiol.* - 2019. - V. 10. - P. 436.
5. Yang B., Wang L., Luo C. et al. Simultaneous determination of 11 aminoglycoside residues in honey, milk, and pork by liquid chromatography with tandem mass spectrometry and molecularly imprinted polymer solid phase extraction // *J AOAC Int.* - 2017. - V.100, №6. - P.1869-1878.
6. European Commission Commission decision 2002/657/EC of 12 august 2002 implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results // *Off. J. Eur. Commun.* - 2002. - V. 50. - P.8-36.
7. Отчет о НИР по теме: «Разработка экспресс-теста для обнаружения остаточных количеств антибиотиков в продуктах животного происхождения» (заключительный отчет) // Булашев А.К., Куйбагаров М.А., Шенжанов К.Т. и др./ № Гос. регистрации 0109РК00897. - 2011. - 78 с.
8. An L., Wang Y., Pan Y. et al. Development and validation of a sensitive indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of florfenicol and thiamphenicol in edible animal tissue and feed // *Food Anal. Methods.* - 2016. - V. 9. - P. 2434-2443.
9. Bahmani K., Shahbazi Y., Nikousefat Z. Monitoring and risk assessment of tetracycline residues in foods of animal origin // *Food Sci. Biotechnol.* - 2020. - V. 29. - P. 441-448.
10. Xu F., Ren K., Yang Y. et al. Immunoassay of chemical contaminants in milk: a review // *J. Integr. Agricult.* - 2015. - V. 14, №11. - P.2282-2295.
11. Parthasarathy R., Monette C., Bracero S. et al. Methods for field measurement of antibiotic concentrations: limitations and outlook // *FEMS Microbiol. Ecol.* - 2018. - V. 94, №8.
12. Lu Y., Sheng W., Liu B. et al. ELISA-based sensing in food safety and quality analysis. In: Lu X (ed) *Sensing techniques for food safety and quality control* // Royal Society of Chemistry, Cambridge. - 2017. - pp 141-163.
13. Отчет о НИР по теме: «Разработка методов оценки качества и контроля ветеринарно-санитарной безопасности продукции животноводства и кормов» (заключительный отчет) // Булашев А.К., Акибеков О.С., Ескендирова С.З. и др./ № Гос. регистрации 0112 РК 01341. - 2014. - 72 с.
14. Bulashev A., Akibekov O., Zhumalin A. et al. Lateral flow-test for express detection of Ivermectin in foods // *Proceedings of 18th Federation of Asian Veterinary Associations Congress, Singapore.* - 2014 - P.114.
15. Wang C., Li X., Peng T. Latex bead and colloidal gold applied in a multiplex immunochromatographic assay for high-throughput detection of three classes of antibiotic residues in milk // *Food Control.* - 2017. - V.77. - P.1-7.
16. Naik L., Sharma R., Mann B. Rapid screening test for detection of oxytetracycline residues in milk using lateral flow assay // *Food Chemistry.* - 2017. - V. 219. - P. 85-92.

17. Shi Q., Huang J., Sun Y. et al. A SERS-based multiple immuno-nanoprobe for ultrasensitive detection of neomycin and quinolone antibiotics via a lateral flow assay // *Microchim. Acta.* - 2018. - V. 85, №2. - P.84.
18. Peng J., Wang Y., Liu L. et al. Multiplex lateral flow immunoassay for five antibiotics detection based on gold nanoparticle aggregations // *RSC Adv.* - 2016. -V. 6, №10. - P.7798-7805.
19. Hendrickson O.D., Byzova N.A., Zvereva E.A. et al. Sensitive lateral flow immunoassay of an antibiotic neomycin in foodstuffs // *J. Food Sci. Technol.* - 2020. - doi.org/10.1007/s13197-020-04541-z.
20. Hendrickson O.D., Zvereva E.A., Shanin I.A. et al. Highly sensitive immunochromatographic detection of antibiotic ciprofloxacin in milk // *Appl. Biochem. Microbiol.* - 2018. - V. 54, №6. - P.670-676.
21. Berlina A.N., Bartosh A.V., Sotnikov D.V. et al. Complexes of gold nanoparticles with antibodies in immunochromatography: comparison of direct and indirect immobilization of antibodies for the detection of antibiotics // *Nanotechnol. Russ.* - 2018. - V. 13, №7. - P.430-438.
22. Тест-наборы для молока Продоскрин Лактест-4 [Электронный ресурс]. -URL: <https://lactotest.com/product/prodoskrin-lactest-4/> (дата обращения: 10.07.2021).
23. Antibiotics ELISA Kits [Electronic resource]. - URL: www.biovision.com/products/elisa-kits/antibiotics-elisa-kits.html (Accessed: July 21, 2021).
24. Экспресс-тест PROQUITEST 4-х сенсорный [Электронный ресурс]. URL: www.biomer.ru/index.php?part=production&item_id=735 (дата обращения: 10.07.2021).
25. For easy and accurate antibiotic residue testing [Electronic resource]. URL: <http://petrolabspb.ru/delvotest-blf--delvotest> (Accessed: July 15, 2021).
26. Sheng W., Li S., Liu Y. et al. Visual and rapid lateral flow immunochromatographic assay for enrofloxacin using dyed polymer microspheres and quantum dots // *Mikrochim. Acta.* - 2017. - V.184. - P.4313-4321.
27. Brandao M.P., Carvalho dos A.V., Bell M.J.V. Time-resolved fluorescence of cow and goat milk powder // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* - 2017. - V.171. - P. 193-199.
28. Tang X. Q., Zhang Z. W., Li P. W. et al. Sample-pretreatment-free based high sensitive determination of aflatoxin M1 in raw milk using a time-resolved fluorescent competitive immunochromatographic assay // *RSC Adv.* - 2015. - V. 5. - P.558-564.
29. Liu D., Huang Y., Wang S. et al. A modified lateral flow immunoassay for the detection of trace aflatoxin M1 based on immunomagnetic nanobeads with different antibody concentrations // *Food Control.* - 2015. - V.51. - P.218-224.
30. Yan L., Dou L., Bu T. et al. Highly sensitive furazolidone monitoring in milk by a signal amplified lateral flow assay based on magnetite nanoparticles labeled dual-probe // *Food Chem.* - 2018. - V.261. - P.131-138.
31. Chen Y., Chen Q., Han M. M. et al. Near-infrared fluorescence-based multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous detection of four antibiotic residue families in milk // *Biosens. Bioelectron.* - 2016. - V.79. - P.430-434.
32. Zhou J., Nie W., Chen Y. et al. Quadruplex gold immunochromatographic assay for four families of antibiotic residues in milk // *Food Chem.* - 2018. - V.256. - P.304-310.
33. Food & Feed Analysis [Electronic resource]. -URL:<https://food.r-biopharm.com/products/ridascreen> (Accessed: July 30, 2021).
34. Cobos A., Diaz O. Chemical composition of meat and meat products. In *Handbook of food chemistry.* - 2015. - pp. 1-32.
35. Moga A., Vergara-Barberan M., Lerma-Garcia M.J. et al. Determination of antibiotics in meat samples using analytical methodologies: A review // *Compr Rev Food Sci Food Saf.* - 2021. - V.20. - P.1681-1716.
36. Wang B., Xie K., Lee K. *Veterinary Drug Residues in Animal-Derived Foods: Sample Preparation and Analytical Methods* // *Foods.* - 2021. - V. 10. – P.555.

37. Wu Y., Guo S., Dong Q. et al. Development of an immunochromatographic test strip for rapid simultaneous detection of enrofloxacin and ofloxacin in tissue of chicken muscle and pork // *Food Analytical Methods*. - 2016. - V.9, №10. - P.2807-2813.
38. Mukunzi D., Suryoprabowo S., Song S. et al. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay and lateral-flow test strips for pefloxacin and its analogues in chicken muscle samples // *Food and Agric. Immunol.* - 2018. - V.29, №1. - P.484-497.
49. Wang J., Zhou J., Chen Y. et al. Rapid one-step enzyme immunoassay and lateral flow immunochromatographic assay for colistin in animal feed and food // *J. Anim. Sci. Biotech.* - 2019. - V. 10. - P.82.
40. Dong X., Gao Y.Q., Zhang X. et al. Multiplex europium (III) nanoparticles immunochromatographic assay method for the detection of four nitrofurans metabolites in fish sample // *Microchemical Journal*. - 2019. - V.150.
41. Su L., Wang L., Xu J. et al. Competitive Lateral Flow Immunoassay Relying on Au-SiO₂ Janus Nanoparticles with an Asymmetric Structure and Function for Furazolidone Residue Monitoring // *J. Agric. Food Chem.* - 2021. - V.69, №1. - P.511-519.

А.Қ. Булашев

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

Тағам құрамындағы антибиотиктерді иммунобиотехнологиялық әдістермен анықтау

Аңдатпа. Ветеринарлық тәжірибеде көптеген антибиотиктер емдік немесе профилактикалық препараттар ретінде қолданыс тауып отыр. Олардың кейбіреулері жануарлардың өсуі мен өнімділігін ынталандырушы ретінде де қолданылады. Алайда, антибиотиктерді қолдану ережелерін сақтамау және препарат егілген малды мерзімінен бұрын сою немесе оның сүтін тұтыну адам ағзасына мал өнімдері арқылы дәрілік заттардың қалдық мөлшерлерінің енуіне әкеліп, әр түрлі патологияларды тудыруы мүмкін. Мақалада сүт пен ет өнімдерінде антибиотиктерді анықтауға арналған әдістерді әзірлеу мәселелері бойынша шетелдік беделді журналдарда 2015 жылдан бастап қазіргі уақытқа дейін жарияланған ғылыми еңбектерге шолу жасалынған. Мақала авторы әдеби шолу және жеке зерттеулерінің нәтижелеріне сүйене отырып, иммунды ферменттік талдау (ИФТ) қойылымдарының аспаптық аналитикалық әдістерге қарағанда, айталық тандемді масс-спектрометрия-сұйық хроматография және жоғары өнімді сұйық хроматографиямен салыстырғанда артықшылықтарын атап өткен. Алайда, талдау процедурасының күрделілігіне байланысты ИФТ жинақтары Қазақстан Республикасы мен ТМД-ның басқа елдерінің азық-түлік қауіпсіздігі зертханаларында қолданыс таба алмай келеді. Осыған орай, шолу мақаласында иммунохроматографиялық талдауды (ИХТ) қолдану негізінде мал өнімдеріндегі антибиотиктердің шекті рұқсат етілген мөлшерін (ШРМ) анықтау үшін қарапайым экспресс-тестілерді (сыналымдарды) әзірлеу және жетілдіру мүмкіншіліктері талқыланады. ИФТ-ға сезімталдығы жағынан кем түспейтін, ал бағасы бойынша ұтымдырақ мұндай сыналымдарды тек зертханалар ғана емес, сонымен қатар кез-келген азық-түлік тұтынушысы да қолдана алады, ал бұл жағдайхалықтың денсаулығын сенімді қорғауға және мал шаруашылығының дамуына оң ықпалын тигізбек.

Түйін сөздер: антибиотик, сүт, ет, иммунды-ферментті талдау, иммунохроматографиялық талдау.

A.K. Bulashev

S. Seifullin Kazakh Agro Technical University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Immunobiotechnological methods for the determination of antibiotics in food

Abstract. In veterinary practice, a large list of antibiotics is used as therapeutic and/or prophylactic agents. Some of them are used as stimulators of the growth and productivity of animals. However, non-observance of the rules for the use of antibiotics and / or timing of slaughter or obtaining milk leads to the intake of a residual amount of antibiotics into the human body with food and can cause various pathologies. The article provides an overview of research papers published in peer-reviewed journals from 2015 to the present on the development and improvement of methods for testing milk and meat for antibiotics. Based on the literature review and the results of his own study, the author of the article notes the advantages of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) options over instrumental analytical methods, such as liquid chromatography with tandem mass spectrometry and high-performance liquid chromatography. However, due to the complexity of the analysis procedure, ELISA kits are not used in food safety laboratories in the Republic of Kazakhstan and other CIS countries. The article describes the state and prospects for the development of simple rapid tests to determine the maximum residue limit (MRL) for antibiotics in livestock products, based on the use of Lateral Flow Assay (LFA). Such tests, not inferior in their sensitivity to ELISA and surpassing it in cost, could be used not only in laboratory conditions, but also directly by food consumers, which will contribute to reliable protection of public health and the development of animal husbandry.

Key words: antibiotic, milk, meat, enzyme linked immunosorbent assay, lateral flow assay.

References

1. Bacanlı M., Basaran N. Importance of antibiotic residues in animal food, *Food Chemical Toxicology*, 125, 462-466 (2019).
2. Wang B., Xie K., Lee K. Veterinary Drug Residues in Animal-Derived Foods: Sample Preparation and Analytical Methods, *Foods*, 10, 555 (2021).
3. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/mrl/regpdf/2001_04_25-0807_en.pdf.
4. Wu Q, Peng D, Liu Q, Shabbir MAB, Sajid A, Liu Z, Wang Y, Yuan Z. A novel microbiological method in microtiter plates for screening seven kinds of widely used antibiotics residues in milk, chicken egg and honey, *Frontiers in Microbiology*, 10, 436 (2019).
5. Yang B., Wang L., Luo C., Wang X., Sun C. Simultaneous determination of 11 aminoglycoside residues in honey, milk, and pork by liquid chromatography with tandem mass spectrometry and molecularly imprinted polymer solid phase extraction, *Journal of AOAC International*, 100 (6), 1869-1878 (2017).
6. European Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, *Official Journal of the European Community*, 50, 8-36 (2002).
7. Bulashev A.K., Kuibagarov M.A., Shenzhanov K.T., Kadyrbekov Kh. Kh., Ryskeldinova D.A., Abilmagzhanov A.B., Zhumalin A.Kh. Otchet o NIR po teme: «Razrabotka ekspress testa dlya obnaruzheniya ostatocnyh kolicestv antibiotikov v produktah zhivotnogo proiskhozhdeniya» (Research report: "Development of a rapid test for the detection of antibiotic residues in animal products"). No. Gosudarstvennoy registracii 0109RK00897, 78 (2011) (In Russian).
8. An L., Wang Y., Pan Y., Tao Y., Chen D., Liu Z., Yang W., Peng D., Yuan Z. Development and validation of a sensitive indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of florfenicol and thiamphenicol in edible animal tissue and feed, *Food Analytical Methods*, 9, 2434-2443 (2016).

9. Bahmani K., Shahbazi Y., Nikousefat Z. Monitoring and risk assessment of tetracycline residues in foods of animal origin, *Food Science Biotechnology*, 29, 441-448 (2020).
10. Xu F., Ren K., Yang Y., Guo J., Ma G., Liu Y., Lu Y., Li X. Immunoassay of chemical contaminants in milk: a review, *Integrative Agriculture*, 4 (11), 2282-2295 (2015).
11. Parthasarathy R., Monette C., Bracero S., Saha M. Methods for field measurement of antibiotic concentrations: limitations and outlook, *FEMS Microbiology Ecology*, 94, 8 (2018).
12. Lu Y., Sheng W., Liu B., Wang S. ELISA-based sensing in food safety and quality analysis. In: Lu X (ed) *Sensing techniques for food safety and quality control*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 141-163 (2017).
13. Bulashev A.K., Akibekov O.S., Eskendirova S.Z., Muhanbetkaliev E.E., Zhumalin A.Kh. Otchet o NIR po teme: «Razrabotka metodov ocenki kachestva i kontrolya veterinarno-sanitarnoy bezopasnosti produkcii zhivotnovodstva i kormov». (Research report: "Development of methods for assessing the quality and control of veterinary and sanitary safety of livestock products and feed"). No. Gosudarstvennoy registracii 0112RK01341, 72 (2014) (In Russian).
14. Bulashev A., Akibekov O., Zhumalin A., Zhagipar F. Lateral flow-test for express detection of Ivermectin in foods, *Proceedings of 18th Federation of Asian Veterinary Associations Congress*, Singapore, 2014. P. 114.
15. Wang C., Li X., Peng T., Wang Z., Wen K., Jiang H. Latex bead and colloidal gold applied in a multiplex immunochromatographic assay for high-throughput detection of three classes of antibiotic residues in milk, *Food Control*, 77, 1-7 (2017).
16. Naik L., Sharma R., Mann B., Lata K., Rajput Y.S., Nath B.S. Rapid screening test for detection of oxytetracycline residues in milk using lateral flow assay, *Food Chemistry*, 219, 85-92 (2017).
17. Shi Q., Huang J., Sun Y., Deng R., Teng M., Li Q., Yang Y., Hu X., Zhang Z., Zhang G. A SERS-based multiple immuno-nanoprobe for ultrasensitive detection of neomycin and quinolone antibiotics via a lateral flow assay, *Microchimica Acta*, 85 (2), 84 (2018).
18. Peng J., Wang Y., Liu L., Kuang H., Li A., Xu C. Multiplex lateral flow immunoassay for five antibiotics detection based on gold nanoparticle aggregations, *RSC Advances*, 6 (10), 7798-7805 (2016).
19. Hendrickson O.D., Byzova N.A., Zvereva E.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Sensitive lateral flow immunoassay of an antibiotic neomycin in food stuffs, *Food Science and Technology*, 58, 292-301 (2020).
20. Hendrickson O.D., Zvereva E.A., Shanin I.A., Zherdev A.V., Tarannum N., Dzantiev B.B. Highly sensitive immunochromatographic detection of antibiotic ciprofloxacin in milk, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 54 (6), 670-676 (2018).
21. Berlina A.N., Bartosh A.V., Sotnikov D.V., Zherdev A.V., Xu C., Dzantiev B.B. Complexes of gold nanoparticles with antibodies in immunochromatography: comparison of direct and indirect immobilization of antibodies for the detection of antibiotics, *Nanotechnology Research and Innovation in Russia*, 13 (7), 430-438 (2018).
22. Test kits for milk Prodoscrin Laktest-4 [Electronic resource]. Available at: <https://lactotest.com/product/prodoskrin-lactest-4> (Accessed: 10.07.2021).
23. Antibiotics ELISA Kits [Electronic resource]. Available at: www.biovision.com/products/elisa-kits/antibiotics-elisa-kits.html (Accessed: July 21, 2021).
24. Express test PROQUITEST 4-touch [Electronic resource]. Available at: www.biomer.ru/index.php?part=production&item_id=735 (Accessed: 10.07.2021).
25. For easy and accurate antibiotic residue testing [Electronic resource]. Available at: <http://petrolabspb.ru/delvotest-blf--delvotest> (Accessed: July 15, 2021).
26. Sheng W., Li S., Liu Y., Wang J., Zhang Y., Wang S. Visual and rapid lateral flow immunochromatographic assay for enrofloxacin using dyed polymer microspheres and quantum dots, *Microchimica Acta*, 184, 4313-4321 (2017).
27. Brandao M. P., Carvalho dos Anjos V. de, Bell M. J. V. Time-resolved fluorescence of cow

and goat milk powder, *Spectrochimica Acta. A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 171, 193-199 (2017).

28. Tang X. Q., Zhang Z. W., Li P. W., Zhang Q., Jiang J., Wang D., Lei J. W. Sample-pretreatment-free based high sensitive determination of aflatoxin M1 in raw milk using a time-resolved fluorescent competitive immunochromatographic assay, *RSC Advances*, 5, 558-564 (2015).

29. Liu D., Huang Y., Wang S., Liu K., Chen M., Xiong Y., Yang W., Lai W. A modified lateral flow immunoassay for the detection of trace aflatoxin M1 based on immunomagneticnanobeads with different antibody concentrations, *Food Control*, 51, 218-224 (2015).

30. Yan L., Dou L., Bu T., Huang Q., Wang R., Yang Q., Huang L., Wang J., Zhang D. Highly sensitive furazolidone monitoring in milk by a signal amplified lateral flow assay based on magnetite nanoparticles labeled dual-probe, *Food Chemistry*, 261, 131-138 (2018).

31. Chen Y., Chen Q., Han M. M., Liu J. Y., Zhao P., He L. D., Zhang Y., Niu Y. M., Yang W. J., Zhang L. Y. Near-infrared fluorescence-based multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous detection of four antibiotic residue families in milk, *Biosensors and Bioelectronics*, 79, 430-434 (2016).

32. Zhou J., Nie W., Chen Y., Yang C., Gong L., Zhang C., Chen Q., He L., Feng X. Quadruplex gold immunochromatographic assay for four families of antibiotic residues in milk, *Food Chemistry*, 256, 304-310 (2018).

33. Food & Feed Analysis [Electronic resource]. Available at <https://food.r-biopharm.com/products/ridascreen> (Accessed: July 30, 2021).

34. Cobos A., Diaz O. Chemical composition of meat and meat products, In *Handbook of food chemistry*, 2015.P. 1-32.

35. Moga A., Vergara-Barberan M., Lerma-Garcia M.J., Carrasco-Correa E. J., Herrero-Martinez J. M., Simo-Alfonso E. F. Determination of antibiotics in meat samples using analytical methodologies, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 1681-1716 (2021).

36. Wang B., Xie K., Lee K. Veterinary Drug Residues in Animal-Derived Foods: Sample Preparation and Analytical Methods, *Foods*, 2021, 10. P.555.

37. Wu Y., Guo S., Dong Q., Song Yu. Development of an immunochromatographic test strip for rapid simultaneous detection of enrofloxacin and ofloxacin in tissue of chicken muscle and pork, *Food Analytical Methods*, 9 (10), 2807-2813 (2016).

38. Mukunzi D., Suryoprabowo S., Song S., Liu L., Kuang H. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay and lateral-flow test strips for pefloxacin and its analogues in chicken muscle samples, *Food and Agricultural Immunology*, 29 (1), 484-497 (2018).

39. Wang J., Zhou J., Chen Y., Zhang X., Jin Y., Cui X., He D., Lai W., He L. Rapid one-step enzyme immunoassay and lateral flow immunochromatographic assay for colistin in animal feed and food, *Animal Science and Biotechnology*, 10, 82 (2019).

40. Dong X., Gao Y.Q., Zhang X., Yuan J., Li P., Xing C.R., Yan W.J. Multiplex europium (III) nanoparticles immunochromatographic assay method for the detection of four nitrofurans metabolites in fish sample, *Microchemical Journal*, 150, 104-207 (2019).

41. Su L., Wang L., Xu J., Wang Z., Yao X., Sun J., Wang J., Zhang D. Competitive Lateral Flow Immunoassay Relying on Au-SiO₂ Janus Nanoparticles with an Asymmetric Structure and Function for Furazolidone Residue Monitoring, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69 (1), 511-519 (2021).

Сведения об авторе:

Булашев А.К. – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры микробиологии и биотехнологии НАО «Казахский агротехнический университет имени Сакена Сейфуллина», проспект Жеңіс, 62, Нур-Султан, Казахстан.

Bulashev A.K. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Microbiology and Biotechnology, NJSC "S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University", 62, Zhenis avenue, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Exosomes and the role of exosomal miRNA in the diagnosis of lung cancer

Abstract. Exosomes are extracellular vesicles secreted by almost all cell types that can function as a cell-to-cell carrier of information, providing pleiotropic functions in intercellular communication. Exosomes can transport various biomolecules, including proteins and nucleic acids, into recipient cells. The review analyzed the current data on the role of exosomes and the possibility of using exosomal microRNAs as a biomarker in the diagnosis of lung cancer. MicroRNAs can act as oncogenes or tumor suppressors, so they can regulate the expression of genes that play an important role in oncogenesis. At the moment, microRNAs of exosomes are one of the main candidates for the role of molecular markers in liquid biopsy for the diagnosis of oncological diseases. The review analyzes the diagnostic potential of the use of exosomes in carcinogenesis in general, with an emphasis on the use of exosomal microRNAs as biomarkers of lung cancer.

Keywords: lung cancer, exosomes; exosomal miRNA; diagnostics; liquid biopsy.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-51-63

Introduction

A necessary condition for the functional activity of any multicellular organism is intercellular interactions, which make it possible to coordinate biochemical and metabolic processes in its cells. Intercellular communication and signaling can be carried out by secreting biologically active molecules into the extracellular space, directly through gap junctions between cells, and by transferring secreted molecules through microvesicular transport through exosomes [1]. In this case, coordinating signals are transmitted using hormones, neurotransmitters, growth factors, cytokines, low molecular weight metabolites, nucleic acids and proteins [2].

Exosomes play an important role in immunity, coagulation, angiogenesis, spermatogenesis, and many various other physiological processes in the organism [3]. Exosomes involved in the processes of intercellular communication function in both paracrine and endocrine modes. Due to its unique structure, which largely resembles a miniature copy of a cell (primarily due to the plasma membrane - a fragment of the cell membrane that reliably isolates exosomes from the external environment), the contents of exosomes remain intact for a long time [4]. Exosomes are now regarded as diagnostic tools and therapeutic agents.

Exosomes were discovered in the mid-1940s [5], but they were first described as extracellular microvesicles in the early 1980s [1]. It was shown that during the maturation of mammalian reticulocytes, the transferrin receptor and some other membrane-bound elements are selectively secreted a cell in extracellular vesicles carried by the bloodstream throughout the body [6]. Exosomes are present in various body fluids such as cerebrospinal fluid, saliva, urine, blood and blood derivatives (serum and plasma) [1,2]. Exosomes contain many different molecules, including proteins, lipids, and various cell metabolites. The complete set of proteins present in exosomes (including thousands of different cellular proteins) is highly variable and reflects the current phenotype of the parent cell. In addition to proteins and lipids, exosomes also contain different classes of nucleic acids: mRNA, microRNA [7], as well as genomic and mitochondrial DNA [8, 9]. Other forms of RNA, including transport, ribosomal, small nucleolar, short and long noncoding RNAs, have also been identified in

exosomes [10]. They can be transferred from host cells to recipient cells to regulate cellular functions [11].

As mentioned above, exosomes include microRNAs, small noncoding RNA molecules 18 to 25 nucleotides long [2,7], which regulate the work of about 60% of the genes encoding proteins in the cell. It turned out that miRNAs are unusually widespread in exosomes, at least more than 600 different types of microRNA are found in their composition [12]. These microRNAs are secreted by a variety of cells: immune system cells, blood cells, stem cells and many other cells, and they control many cellular processes such as proliferation, differentiation, and cell death. All of them secrete exosomes with different microRNA content, corresponding to the physiological tasks of specific exosomes [7]. It was found that miRNAs modulate gene expression at the post-transcriptional level by binding to the 3'-noncoding regions of their mRNA targets [13].

To date, a large amount of evidence has been accumulated on the involvement of exosome miRNAs in the carcinogenesis of various malignant neoplasias, including lung cancer, which is the main cause of death from malignant neoplasms worldwide [14,15,16]. Although the risk and incidence of lung cancer are slightly higher among men, this cancer is becoming the leading cause of cancer death among women as well. Lung cancer is very difficult to diagnose in the early stages of the tumor process, which makes the treatment of this disease loweffective. In this regard, early detection of the disease through the use of new biomarkers is a promising strategy for reducing mortality from lung cancer. An important method for the diagnosis of tumors is a liquid biopsy from samples of blood serum and plasma, which can be used to obtain a complete molecular profile of genomic changes that occur in several areas of primary tumors in real time [17, 18]. During carcinogenesis, tumor cells constantly interact with each other and with normal host cells to accelerate cell growth and survival. Exosomes derived from tumor cells are involved in these communication processes by transferring their various ingredients from donor to recipient cells [19].

The development of non-invasive methods for the study of exosomes containing microRNAs of tumor cells for early diagnosis and monitoring of tumor growth is today an actual problem of oncology. In this regard, exosome miRNAs are currently actively used as molecular biomarkers for the diagnosis of lung cancer [16, 18]. When comparing the expression of exosomal miRNA in patients with non-small cell lung cancer and healthy people, more than thirty miRNAs were found, which showed differential expression [20].

Structure and function of exosomes

Exosomes are extracellular membrane vesicles, 30–100 nm in diameter, of endocytic origin, which are formed during the formation of a multivesicular body and are secreted into the extracellular space [21, 22]. Exosomes are the result of four sequential processes occurring in the cell - initiation, endocytosis, formation of the multivesicular body and secretion [1,22].

The process of exosome formation begins with invagination of microdomains of the cytoplasmic membrane with the formation of an early endosome. The early endosome matures into a late endosome, which then transforms into a multivesicular body, which can attach to the plasma membrane from the inside and release exosomes into the extracellular space [1,2].

Microvesicular particles secreted by cells are divided into two classes that differ in the mechanism of secretion: 1) microvesicles formed directly from the plasma membrane and have an average larger size (100-1000 nm), and 2) exosomes secreted from cells by fusion with the plasma membrane microvesicular particles (combined into one concept with late endosomes), which include future exosomes, also called intraluminal vesicles [23,24]. Thus, it is obvious that the mechanism of exosome secretion is the result of vesicular transport and is directly related to endocytosis [22,23,25]. The internal contents, size and membrane composition of extracellular vesicles are always heterogeneous and

depend on the type of donor cell, its functional state and environmental conditions [23].

After their discovery, the main function of exosomes was considered to be the rapid removal of some proteins from cells, mainly membrane bound [6]. However, it was later found that exosomes can transport various biomolecules to recipient cells, including proteins, RNA, DNA, microRNA, viral particles, causing a whole range of changes in cells at the genomic and epigenomic levels [2,4]. Exosomes are secreted by almost all cells in the body and carry a variety of signals to recipient cells. The mechanism of interaction of exosomes with recipient cells is not fully understood. Several variants of such a mechanism are being considered, including: 1) ligand-receptor interactions; 2) embedding of the exosomal membrane into the cell membrane; 3) phagocytosis of exosomes by recipient cells [24]. It has been shown that exosomes obtained from infected cells contain pathogenic antigens that modulate the immune response. In particular, exosomes of endothelial cells infected with cytomegalovirus are capable of inducing a specific immune response [4]. It has been shown, for example, that exosomes of macrophages infected with human immunodeficiency virus of the first type bind specifically to T-cells, which ensures the spread of infection and suppression of the immune response [26]. Exosomes of different subpopulations of T- cells contain different miRNAs [27].

The content of certain types of RNA may vary depending on the source of the exosome. The first experimental evidence that exosomes can carry mRNA were studies by Ratajczak et al. [28], who showed that when processing mouse mononuclear bone marrow cells with exosomes from embryonic stem cells, in the cytoplasm of which there is a lot of mRNA of the transcription factor of the Ost4 protein, hematopoietic cells are reprogrammed and an increased synthesis of this protein occurs. Later, it was shown that the transfer of mRNA and microRNA by exosomes to target cells promotes tissue regeneration after exposure to stress [29].

As mentioned earlier, exosomes also contain mitochondrial DNA, single-stranded and double-stranded DNA [8,9]. The exosomal composition of DNA has been much less studied than the composition of RNA. The presence of DNA in exosomes usually indicates pathological conditions such as cancer, genetic disorders, etc. [30].

The role of exosomes in carcinogenesis

Exosomes play an important role in the development of pathological conditions. Exosomes of bronchial epithelial cells, containing an increased amount of cytokines, in the case of bronchial asthma, provide the spread of the anti-inflammatory effect in all tissues of the respiratory system [31]. It has been shown that tumor cells produce exosomes in much larger quantities than normal cells. Exosomes produced by tumor cells are found in almost all body fluids, including blood serum, urine, semen, ascites and pleural fluids. Due to the presence on their membranes of adhesion receptors and ligands specific for various types of cells and tissues, exosomes interact with certain types of cells, delivering biological molecules of the widest spectrum of action to the latter, including growth factors, cytokines, receptors, bioactive lipids and various types of RNA [22,23,26].

The secretion of exosomes has been shown for the vast majority of malignant tumors, and this process is a characteristic feature of neoplastic cell transformation [32].

Exosomes originating from tumor cells play a role in the communication of tumor cells through the transfer of their various ingredients from donor to recipient cells [33] and affect both their microenvironment and distant organs, where they can promote angiogenesis, proliferation and metastasis. Exosomes, which are significantly involved in cancer growth and metastatic spread, are considered the main cause of paracrine effects on recipient cells. Regulation of oncogene expression and abnormal transformations can also result from various effects of initiation factors. Eukaryotic translation initiation factor 3 (eIF3) binds the 43S preinitiation complex and eIF4F-bound mRNA to control protein synthesis, and their aberrantly expressed subunits are associated with various types of cancer [34, 35].

Exosomes create a complex network of interactions that suppress the immune system, delivering the contents of tumor cells to immune cells, as well as disrupt the activation of natural killer cells and induce apoptosis of effector T-cells [36]. Exosomes can not only form an immunoprivileged environment within the tumor tissue, but also transfer proapoptotic molecules, for example, Fas ligand molecules, which cause the death of activated antitumor T- lymphocytes [37, 38]. It was shown that tumor endosomes suppress lymphocyte differentiation by modulating the expression of interleukin-2 [39]. Tumor exosomes not only increase the number and activity of immunosuppressive cells, but also promote the active transfer of various viruses, including viruses associated with carcinogenesis. There is evidence that exosomes mediate cell resistance to radiation by interacting with the cell cycle and DNA repair processes [40].

As mentioned above to date, a large body of evidence has been accumulated on the involvement of microRNAs in the carcinogenesis of various malignant neoplasias. MiRNAs are key regulators of gene expression in cancer, functioning as either tumorsuppressors or oncogenes depending on the target mRNA, and play a important role in tumorigenesis. Exosomes provide highly stable source of miRNAs in body fluids, protecting them against degradation even under nonphysiological conditions. It was shown that exosomal microRNAs remain stable during longterm storage at room temperature [42]. Their enhanced stability compared to proteins and other nucleic acids, both in the circulation and in fixed tissues, makes exosomal microRNAs well-suited to analysis. MiRNAs are taken up by nearby or distal target recipient cells as a cargo of exosomes, reflecting a cell-to-cell communication method that can influence the pathogenesis of cancer. Cazzoli et al. found two sets of exosome miRNAs, which not only allowed them to distinguish lung nodule patients from healthy former smokers, but also to distinguish lung adenocarcinoma and granuloma [43].

In tumor cells, microRNA-regulated genes for apoptosis, cell division, and differentiation determine the nature of the tumor. It has been shown that exosomal miRNAs are involved in regulatory processes in diseases of various systems, including cardiovascular [44], neurological [45], and urinary tract diseases [46], especially malignant tumors [47] in these systems.

The set of microRNAs and their ratio in exosomes of cells, blood plasma and other biological fluids in colon cancer [48], ovary [49], and pancreas [50] were determined. It was shown that the set of miRs and their ratio in exosomes in the serum (plasma) of blood corresponds to that in exosomes of tumor cells in the same patient. It was demonstrated, that cancer cell released exomiR-21, exomiR-23, exomiR-29, exomiR-103, and exomiR-210 promote tumor proliferation, angiogenesis, and migration [51]. In particular, exo-miR-21 may be a promising biomarker for many types of cancer [47]. In many tumors, there is an increased content of let7 miR, which regulates the Ras protein, miR-15, miR-16, and regulates the activity of mRNA Bcl-2, miR-21, miR-214 [13, 16]. It has been shown that tumor microRNAs isolated from exosomes can be successfully used for the early diagnosis of prostate cancer, bladder cancer, colorectal cancer, brain tumors, and pancreatic cancer [45,48,52].

Role of exosomal microRNA in diagnosis of lung cancer

Recent studies have shown that exosomal miRNAs play an important role in the pathogenesis and progression of several lung diseases, including lung cancer, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, tuberculosis, and interstitial lung disease [18,53,54]. However, the expression patterns of miRNAs differ depending on physiological and pathological conditions, which may mean that these exosomal biomolecules have the potential to ward off disease states. In addition, it has been shown that the profiles of exosomal miRNA in patients with lung disease differ from those in healthy people. The analysis of exosome contents allows for differential diagnosis of benign and malignant lung tumors. Exosomal miRNAs are likely to become non-invasive diagnostic biomarkers of lung diseases, including lung cancer.

Several studies addressed circulating miRNA as potential molecular signatures to be used for the diagnosis of lung cancer. Numerous papers have been published in last decade that described signatures of serum/plasma miRNA, which enabled the differentiation between lung cancer patients and healthy individuals [18,53,54,55]. Most of these reports described multi-component miRNA [55]. To identify the miRNAs in exosomes that participate in the lung cancer many studies have measured exosomal miRNA profiles in blood plasma and serum. The results of these studies recently were summarized by Smolarz and Widlak [55]. Proposed lung cancer signatures involved more than 100 miRNA species overall, which included 39 miRNA species that recurred in more than one signature. It was shown that four miRNA species were included in more than five signatures, namely, miR-21 (11 signatures), miR-148b (8 signatures), miR-126, and miR-486-5p (seven signatures) [55].

Circulating miRNA profiles are different for each cancer microenvironment and stage of tumor progression. The microRNA profile can change due to exposure to both chemical and physical environmental factors [56,57]. The comparison between microRNAs in the patients with non-small cells lung cancer (NSCLC), and the healthy controls showed that the plasma miR-18a and miR-126 expression levels were lower in the patients with NSCLC, whereas the expression levels of miR-19a, miR-20a, miR-92a, miR-130a, miR-210, miR-296, and miR-378 were higher in the patients with NSCLC [54].

Several studies have shown that the epigenetic basis of lung cancer is associated with changes in the miRNA's expression profile [56,57]. Epigenetic changes primarily allowing the cell to adapt to environmental factors. Currently, the problem of radon exposure to the human is widely studied worldwide. In Kazakhstan, this problem remains poorly understood, despite the fact that most of the territories of the Republic of Kazakhstan are classified as radon-hazardous. For the moment, the association of radon and the risk of lung cancer is not in doubt, but the mechanism of how radon induces malignant cell transformation remains unclear. Most of the existing research in the current literature concerns the genetic aspects of the etiology and pathogenesis of radon-induced lung cancer [57]. We examined 136 subjects, including 49 patients with lung cancer exposed to radon, 37 patients with lung cancer without radon exposure, and 50 volunteers as a control group. The level of free-circulating microRNA hsa-miR-19b-3p was significantly higher in groups of patients with lung cancer compared with healthy individuals. Our results indicate that the detection of hsa-miR-19b-3p levels in blood plasma can potentially be used as a non-invasive method for diagnosing lung cancer [58] and further identification of miRNAs as a specific marker of radon exposure becomes very relevant. However, a major disadvantage of this approach is the low specificity of the method based on free-circulating miRNAs and the inability to obtain miRNAs directly from tumor tissue. Therefore, the study of the exosomal miRNAs is the most informative method. Exosomes contain proteins and genetic material (including microRNAs) derived from their parent cells, and can potentially affect recipient cell and cargos in exosomes can be used as potential diagnostic and prognostic cancer biomarkers [2,6,7]. However, evidence on the relationship of exosomes and exosomal miRNAs with radon are currently unavailable. Therefore the study of radon-mediated changes in the exosomal miRNAs from bronchial epithelial cells and its influence on such processes as inflammation, cytokine production, and induction of cell death is very relevant. Taking into account the situation with radon risk and the incidence of lung cancer in Kazakhstan, the search for markers that can detect early radon-induced changes that lead to malignant transformation of bronchial epithelial cells is very relevant. In summary, lung cancer is the most common form of malignant neoplasia and is one of the leading causes of cancer death. Early detection of lung cancer is screening programs is a rational way to reduce mortality from this disease. Many studies have reported the functions of exosomes and exosomal miRNAs in different types of cancer, including lung cancer. Exosomal miRNA mediate cell-to cell communication, which participates

in the development of lung cancer. In this review was analysed recent knowledge about the roles of exosomes and possibility of using exosomal miRNAs as biomarker in early detection of lung cancer.

Fundig. This study was partially supported by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Grant No-AP08856116).

References

1. Pegtel D.M., Gould S.J. Exosomes // *Annu. Rev. Biochem.* 2019, 88, 487–514. doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111902.
2. Kalluri R., LeBleu V.S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes // *Science* 2020, 367. doi: 10.1126/science.aau6977.
3. Aheget H., Mazini L., Martin F., Belqat B., Marchal J.A., Benabdellah K. Exosomes: Their Role in Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Diseases // *Cancers* 2021, 13, 84. doi: 10.3390/cancers13010084.
4. Ratajczak M.Z.; Ratajczak J. Extracellular microvesicles/exosomes: Discovery, disbelief, acceptance, and the future? // *Leukemia* 2020, 34, 3126–3136. doi: 10.1038/s41375-020-01041-z.
5. Chargaff E., West R. The biological significance of the thromboplastic protein of blood // *J.Biol.Chem.* 1946, 166, 189-197.
6. Kowal J., Tkach M., Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes // *Curr. Opin.Cell Biol.* 2014, 29, 116-125. doi: 10.1016/j.ceb.2014.05.004.
7. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-Mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells // *Nat. Cell Biol.* 2007, 9, 654–659. doi: 10.1038/ncb1596.
8. Thakur B.K., Zhang H., Becker A., Matei I., Huang Y., Costa-Silva B., Zheng Y., Hoshino A., Brazier H., Xiang J. Doublestranded DNA in exosomes: A novel biomarker in cancer detection // *Cell Res.* 2014, 24, 766–769. doi: 10.1038/cr.2014.44.
9. Guescini M., Genedani S., Stocchi V., Agnati L.F. Astrocytes and Glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA // *J. Neural Transm.* 2010, 117, 1. doi: 10.1007/s00702-009-0288-8.
10. Huang X., Yuan T., Tschannen M., Sun Z., Jacob H., Du M., Liang M., Dittmar R.L., Liu Y., Liang M. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing // *BMC Genom.* 2013, 14, 319. doi: 10.1186/1471-2164-14-319.
11. Camussi G., Deregibus M.C., Bruno S., Cantaluppi V., Biancone L. Exosomes/Microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication // *Kidney Int.* 2010, 78, 838–848. doi: 10.1038/ki.2010.278.
12. Chen W. X., Liu X. M., Lv M. M. et al. Exosomes from drug-resistant breast cancer cells transmit chemoresistance by a horizontal transfer of microRNAs // *PLoS One* 2014;9(4):e95240. doi: 10.1371/journal.pone.0095240.
13. Vishnoi A., Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview // *Methods Mol. Biol.* 2017, 1509, 1–10. doi: 10.1007/978-1-4939-6524-3_1.
14. Iqbal M.A., Arora S., Prakasam G., Calin G.A., Syed M.A. MicroRNA in lung cancer: Role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance // *Mol. Aspects Med.* 2019, 70, 3–20. doi: 10.1016/j.mam.2018.07.003.
15. Izzotti A., Carozzo S., Pulliero A., Zhabayeva D., Ravetti J.L., Bersimbaev R. Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention // *American Journal of Cancer Research*, 6 (7):1461-1493 (2016).
16. Vrijens K., Bollati V., Nawrot T.S. MicroRNAs as potential signatures of environmental exposure or effect: a systematic review // *Environment. Health Perspect.* 123: 399-411 (2015). doi: 10.1289/ehp.1408459.

17. Zhou B., Xu K., Zheng X., Chen T., Wang J., Song Y., Shao Y., Zheng S. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis // *Signal. Transduct. Target. Ther.* 2020, 5, 144. doi: 10.1038/s41392-020-00258-9.
18. Cui S., Cheng Z., Qin W., Jiang L. Exosomes as a liquid biopsy for lung cancer // *Lung Cancer* 2018, 116, 46–54. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.12.012.
19. Rahbarghazi R., Jabbari N., Sani N.A., Asghari R., Salimi L., Kalashani S.A., Feghhi M., Etemadi T., Akbariazar E., Mahmoudi M. Tumor-derived extracellular vesicles: Reliable tools for Cancer diagnosis and clinical applications // *Cell Commun. Signal.* 2019,17, 73. doi: 10.1186/s12964-019-0390-y.
20. Thind A., Wilson, C. Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets // *J. Extracell. Vesicles* 2016, 5, 31292. doi: 10.3402/jev.v5.31292.
21. Viaud S., Ullrich E., Zitvogel L., Chaput N. Exosomes for the treatment of human malignancies // *Horm Metab Res* 2008;40(2):82–88 doi: 10.1055/s-2007-1022548.
22. Simons M., Raposo G. Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication // *Curr Opin Cell Biol* 2009;21(4):575–81 doi: 10.1016/j.ceb.2009.03.007.
23. Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy // *Annu. Rev. Physiol.* 77, 13–27 (2015). doi: 10.1146/annurev-physiol-021014-071641.
24. Budnik V., Ruiz-Canada C. & Wendler, F. Extracellular vesicles round off communication in the nervous system // *Nat. Rev. Neurosci.* 17, 160–172 (2016). doi: 10.1038/nrn.2015.29.
25. Kubo H. Extracellular vesicles in lung disease // *Chest* 153, 210–216 (2018). doi: 10.1016/j.chest.2017.06.026
26. Robbins P. D., Morelli A. E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles // *Nat Rev Immunol* 2014;14(3):195–208. doi: 10.1038/nri3622.
27. Halvorsen A.R., Bjaanæs M., LeBlanc M., Holm A.M., Bolstad N., Rubio L., Peñalver J.C., Cervera J., Mojarrieta J.C., López-Guerrero J.A., et al. A unique set of 6 circulating microRNAs for early detection of non-small cell lung cancer // *Oncotarget* 2016, 7, 37250–37259. doi: 10.18632/oncotarget.9363.
28. Ratajczak J., Miekus K., Kucia et al. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors:evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery // *Leukemia* 2006,20,847-856 doi: 10.1038/sj.leu.2404132.
29. Bruno S.D., Grange C., Collino F. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury // *PLoS One* 2012,7, e33115 doi: 10.1371/journal.pone.0033115.
30. Yanez-Mo M.S., Iljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borrás F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions // *J. Extracell. Vesicles* 2015, 4, 27066. doi: 10.3402/jev.v4.27066.
31. Mazzeo C. et al. Exosome secretion by eosinophils: A possible role in asthma pathogenesis // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015, 135, 1603–1613. doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.026.
32. Zhang L., Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochim. Biophys // Acta Rev. Cancer* 2019,1871, 455–468. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.04.004.
33. Vargas A., Roux-Dalvai F., Droit A. & Lavoie, J. P. Neutrophil-derived exosomes: a new mechanism contributing to airway smooth muscle remodeling // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2016,55, 450–461. doi: 10.1165/rcmb.2016-0033OC.
34. Yin Y., Long J., Sun Y., Li H., Jiang E., Zeng C., Zhu W. The function and clinical significance of eIF3 in cancer // *Gene* 2018, 673,130–133. doi: 10.1016/j.gene.2018.06.034.
35. Zhao M., Mishra L., Deng C.X. The role of TGF- β /SMAD4 signaling in cancer // *Int. J. Biol. Sci.* 2018, 14, 111–123. doi: 10.7150/ijbs.23230.

36. Okoye I.S. et al. MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells // *Immunity* 2014, 41, 89–103. doi: 10.1016/j.immuni.2014.05.019.
37. Clayton A., Mason M.D. Exosomes in tumour immunity // *Curr. Oncol.* 2009, 16, 46–49. doi: 10.3747/co.v16i3.367.
38. Andreola G., Rivoltini L., Castelli C., Huber V., Perego P., Deho P., Squarcina P., Accornero P., Lozupone F., Lugini L., et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles // *J. Exp. Med.* 2002, 195, 1303–1316. doi: 10.1084/jem.20011624.
39. Clayton A., Mitchell J.P., Court J., Mason M.D., Tabi Z. Human tumor-derived exosomes selectively impair lymphocyte responses to interleukin-2 // *Cancer Res.* 2007, 67, 7458–7466. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3456.
40. Greening D.W., Gopal S.K., Xu R., Simpson R.J., Chen W. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2015, 40, 72–81. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.02.009.
41. Nabet B.Y., Qiu Y., Shabason J.E., Wu T.J., Yoon T., Kim B.C., Benci J.L., DeMichele A.M., Tchou J., Marcotrigiano J. Exosome RNA unshielding couples stromal activation to pattern recognition receptor signaling in cancer // *Cell* 2017, 170, 352–366.e313. doi: 10.1016/j.cell.2017.06.031.
42. Xi Y., Nakajima G., Gavin E., Morris C.G., Kudo K., Hayashi K., Ju J. Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples // *RNA* 2007, 13, 1668–1674. doi: 10.1261/rna.642907.
43. Cazzoli R., Buttitta F., Di Nicola M., Malatesta S., Marchetti A., Rom W.N., Pass H.I. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2013, 8, 1156–1162. doi: 10.1097/JTO.0b013e318299ac32.
44. Iaconetti C., Sorrentino S., De Rosa S. & Indolfi, C. Exosomal miRNAs in heart disease // *Physiology (Bethesda)* 2017, 31, 16–24. doi: 10.1152/physiol.00029.2015.
45. Kawikova I. & Askenase P.W. Diagnostic and therapeutic potentials of exosomes in CNS diseases // *Brain Res.* 2015, 1617, 63–71. doi: 10.1016/j.brainres.2014.09.070.
46. Khurana R. et al. Identification of urinary exosomal noncoding RNAs as novel biomarkers in chronic kidney disease // *RNA* 2017, 23, 142–152. doi: 10.1261/rna.058834.116.
47. Takahashi R.U., Prieto-Vila M., Hironaka A. & Ochiya T. The role of extracellular vesicle microRNAs in cancer biology // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2017, 55, 648–656. doi: 10.1515/cclm-2016-0708.
48. Liu G., Li B. Role of miRNA in transformation from normal tissue to colorectal adenoma and cancer // *J. Cancer Res. Ther.* 2019, 15, 278–285. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_135_18.
49. Ghafouri-Fard S., Shoorei H., Taheri M. miRNA profile in ovarian cancer // *Exp. Mol. Pathol.* 2020, 113, 104381. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104381.
50. Abreu F.B., Liu X., Tsongalis G.J. miRNA analysis in pancreatic cancer: The Dartmouth experience // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2017, 55, 755–762. doi: 10.1515/cclm-2017-0046.
51. Wang M., Yu F., Ding H., Wang Y., Li P., Wang K. Emerging function and clinical values of exosomal MicroRNAs in cancer // *Mol. Ther. Nucleic Acids* 2019, 16, 791–804. doi: 10.1016/j.omtn.2019.04.027.
52. Balacescu O., Dumitrescu R.G., Marian C. MicroRNAs Role in Prostate Cancer // *Methods Mol. Biol.* 2018, 1856, 103–117. doi: 10.1007/978-1-4939-8751-1_6.
53. Alipoor S.D. et al. Exosomes and exosomal miRNA in respiratory diseases // *Mediat. Inflamm.* 2016, 5628404. doi: 10.1155/2016/5628404.
54. Li Y., Yin Z., Fan J., Zhang J. Yang W. The roles of exosomal miRNAs and lncRNAs in lung diseases // *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2019, 4, 47 doi: 10.1038/s41392-019-0080-7.
55. Smolarz M., Widlak P. Serum exosomes and their miRNA load – a potential biomarker of lung cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 2154 doi: 10.3390/pak13061373.

56. Bersimbaev R., Bulgakova O., Aripova A., Kussainova A.A., Ilderbayev O. Role of microRNAs in Lung Carcinogenesis induced by asbestos // J.Pers.Med. 2021,11,97 doi: 10.3390/jpm11020097.

57. Bersimbaev R., Pulliero A., Bulgakova O., Kussainova A.A., Aripova A., Izzotti A. Radon Biomonitoring and microRNA in Lung Cancer // Int. J. Mol. Sci.2020, 21, 2154. doi: 10.3390/ijms21062154.

58. Bulgakova O., Kussainova A., Kalibekov N., Serikbayuly D., Zinoveva T., Aripova A., Bersimbaev R. The plasma levels of hsa-miR-19-3p, hsa-miR-125-5p and hsa-miR-155b-5p in NSCLC patients // Internat. J. Biol.Chem., 2019, 12, 80-85. doi.org/10.26577/ijbch-2019-v2-10.

**Р.И. Берсімбай, О.В. Булгакова, А.А. Арипова, А.Ж. Каусбекова,
Г.А. Токсобаева, А.А. Кусаинова**

Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ Клеткалық биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институты, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Өкпенің қатерлі ісігін диагностикалаудағы экзосомалар мен экзосомалық микроРНК рөлі

Аңдатпа. Экзосомалар - бұл жасушадан жасушаға ақпарат тасымалдаушысы ретінде қызмет ете алатын, жасушааралық байланыста плеотропты функцияларды қамтамасыз ететін жасушалардың барлық дерлік түрлері шығаратын жасушадан тыс везикулалар. Экзосомалар қабылдаушы жасушаларға әртүрлі биомолекулаларды, соның ішінде ақуыздар мен нуклеин қышқылдарын тасымалдай алады. Әдеби шолуда экзосомалардың рөлі және өкпе қатерлі ісігін диагностикалауда биомаркер ретінде экзосомалық микроРНК қолдану мүмкіндігі туралы заманауи мәліметтер қарастырылған. МикроРНК онкогендер немесе ісік супрессорлары ретінде әрекет ете алады, сондықтан олар онкогенезде маңызды рөл атқаратын гендердің экспрессиясын реттей алады. Қазіргі уақытта экзосомалық микроРНК қатерлі ісік диагнозын қою үшін сұйық биопсияның молекулалық маркерлерінің рөліне негізгі кандидаттардың бірі болып табылады. Әдеби шолу экзосомалық микроРНК-ны өкпе қатерлі ісігінің биомаркері ретінде қолдануға баса назар аудара отырып, канцерогенезде экзосомаларды қолданудың диагностикалық әлеуеті талданды.

Түйін сөздер: өкпенің қатерлі ісігі, экзосома, экзосомалық микроРНК, диагностика, сұйық биопсия.

**Р.И. Берсімбай, О.В. Булгакова, А.А. Арипова, А.Ж. Каусбекова,
Г.А. Токсобаева, А.А. Кусаинова**

НИИ клеточной биологии и биотехнологии, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Экзосомы и роль экзосомальной микроРНК в диагностике рака легкого

Аннотация. Экзосомы представляют собой внеклеточные везикулы, выделяемые почти всеми типами клеток, которые могут функционировать в качестве переносчика информации от клетки к клетке, обеспечивая плеiotропные функции в межклеточной коммуникации. Экзосомы могут транспортировать в клетки-реципиенты различные биомолекулы, в том числе белки и нуклеиновые кислоты. В обзоре рассмотрены современные данные о роли экзосом и возможности использования экзосомальных микроРНК в качестве биомаркера при диагностике рака легкого. МикроРНК могут действовать как онкогены или как супрессоры опухолей, поэтому они могут регулировать экспрессию генов, которые играют важную роль в онкогенезе. На данный

момент микроРНК экзосом являются одними из основных кандидатов на роль молекулярных маркеров жидкой биопсии для диагностики онкологических заболеваний. В обзоре проанализирован диагностический потенциал использования экзосом в канцерогенезе в целом, с акцентом на использование экзосомальных микроРНК в качестве биомаркеров рака легких.

Ключевые слова: рак легких, экзосомы, экзосомальная микроРНК, диагностика, жидкостная биопсия.

References

1. Pegtel D.M., Gould S.J. Exosomes, *Annu. Rev. Biochem.*, 20 (88) 487–514(2019). doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111902.
2. Kalluri R., LeBleu V.S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes, *Science*, 7;367(6478), eaau697(2020). doi: 10.1126/science.aau6977.
3. Aheget H., Mazini L., Martin F., Belqat B., Marchal J.A., Benabdellah K. Exosomes: Their Role in Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Diseases, *Cancers*, 30;13(1),84(2021). doi: 10.3390/рак13010084.
4. Ratajczak M.Z., Ratajczak J. Extracellular microvesicles/exosomes: Discovery, disbelief, acceptance, and the future?, *Leukemia*, 34(12), 3126-3135(2020). doi: 10.1038/s41375-020-01041-z.
5. Chargaff E., West R. The biological significance of the thromboplastic protein of blood, *J.Biol.Chem.*, 166(1),189-97(1946).
6. Kowal J., Tkach M., Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes, *Curr. Opin.Cell Biol.*, 29, 116-25(2014). doi: 10.1016/j.ceb.2014.05.004.
7. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-Mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells, *Nat. Cell Biol.*, 9(6),654-9 (2007). doi: 10.1038/ncb1596.
8. Thakur B.K., Zhang H., Becker A., Matei I., Huang Y., Costa-Silva B., Zheng Y., Hoshino A., Brazier H., Xiang J. Doublestranded DNA in exosomes: A novel biomarker in cancer detection, *Cell Res.*, 24(6),766-9 (2014). doi: 10.1038/cr.2014.44.
9. Guescini M., Genedani S., Stocchi V., Agnati L.F. Astrocytes and Glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA, *J. Neural Transm.*, 117(1),1-4(2010). doi: 10.1007/s00702-009-0288-8.
10. Huang X., Yuan T., Tschannen M., Sun Z., Jacob H., Du M., Liang M., Dittmar R.L., Liu Y., Liang M. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing, *BMC Genom.*,10;14,319(2013). doi: 10.1186/1471-2164-14-319.
11. Camussi G., Deregibus M.C., Bruno S., Cantaluppi V., Biancone L. Exosomes/Microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication, *Kidney Int.*, 78(9),838-48(2010). doi: 10.1038/ki.2010.278.
12. Chen W.X., Liu X.M., Lv M.M. et al. Exosomes from drug-resistant breast cancer cells transmit chemoresistance by a horizontal transfer of microRNAs, *PLoS One*, 16;9(4),e95240 (2014). doi: 10.1371/journal.pone.0095240.
13. Vishnoi A., Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview, *Methods Mol. Biol.*, 1509,1-10(2017). doi: 10.1007/978-1-4939-6524-3_1.
14. Iqbal M.A., Arora S., Prakasam G., Calin G.A., Syed M.A. MicroRNA in lung cancer: Role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance, *Mol. Aspects Med.*, 70,3-20(2019). doi: 10.1016/j.mam.2018.07.003.
15. Izzotti A., Carozzo S., Pulliero A., Zhabayeva D., Ravetti J.L., Bersimbaev R. Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention, *American Journal of Cancer Research*, 1;6(7),1461-93 (2016).
16. Vrijens K., Bollati V., Nawrot T.S. MicroRNAs as potential signatures of environmental exposure or effect: a systematic review, *Environment. Health Perspect.*, 123(5),399-411(2015).

17. Cui S., Cheng Z., Qin W., Jiang L. Exosomes as a liquid biopsy for lung cancer, *Lung Cancer*, 116,46-54(2018). doi: 10.1016/j.lungcan.2017.12.012.
18. Rahbarghazi R., Jabbari N., Sani N.A., Asghari R., Salimi L., Kalashani S.A., Feghhi M., Etemadi T., Akbariazar E., Mahmoudi M. Tumor-derived extracellular vesicles: Reliable tools for Cancer diagnosis and clinical applications, *Cell Commun. Signal.*, 10;17(1),73(2019). doi: 10.1186/s12964-019-0390-y.
19. Thind A., Wilson, C. Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets, *J. Extracell. Vesicles*, 19;5,31292(2016). doi: 10.3402/jev.v5.31292.
20. Viaud S., Ullrich E., Zitvogel L., Chaput N. Exosomes for the treatment of human malignancies, *Horm Metab Res*, 40(2),82-8(2008). doi: 10.1055/s-2007-1022548.
21. Simons M., Raposo G. Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication, *Cuzz Opin Cell Biol*, 21(4),575-81(2009). doi: 10.1016/j.ceb.2009.03.007.
22. Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy, *Annu. Rev. Physiol.*, 77,13-27(2015). doi: 10.1146/annurev-physiol-021014-071641.
23. Budnik V., Ruiz-Canada C. & Wendler, F. Extracellular vesicles round off communication in the nervous system, *Nat. Rev. Neurosci.*, 17(3),160-72 17(2016). doi: 10.1038/nrn.2015.29.
24. Kubo H. Extracellular vesicles in lung disease, *Chest*, 153(1),210-216 153(2018). doi: 10.1016/j.chest.2017.06.026
25. Robbins P.D., Morelli A.E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles, *Nat Rev Immunol*, 14(3),195-208(2014). doi: 10.1038/nri3622.
26. Halvorsen A.R., Bjaanæs M., LeBlanc M., Holm A.M., Bolstad N., Rubio L., Peñalver J.C., Cervera J., Mojarrieta J.C., López-Guerrero J.A., et al. A unique set of 6 circulating microRNAs for early detection of non-small cell lung cancer, *Oncotarget*, 14;7(24),37250-37259(2016). doi: 10.18632/oncotarget.9363.
27. Ratajczak J., Miekus K., Kucia et al. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors:evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery, *Leukemia*, 20(5),847-56 (2006). doi: 10.1038/sj.leu.2404132.
28. Bruno S.D., Grange C., Collino F.M. Icrovesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury, *PLoS One*, 7(3),e33115(2012). doi: 10.1371/journal.pone.0033115.
29. Yanez-Mo M.S, iljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borrás F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions, *J. Extracell. Vesicles*, 14;4,27066(2015). doi: 10.3402/jev.v4.27066.
30. Mazzeo C. et al. Exosome secretion by eosinophils: A possible role in asthma pathogenesis, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 135(6),1603-13(2015). doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.026.
31. Zhang L., Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity, *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer*, 1871(2),455-468(2019). doi: 10.1016/j.bbcan.2019.04.004.
32. Vargas A., Roux-Dalvai F., Droit A. & Lavoie, J. P. Neutrophil-derived exosomes: a new mechanism contributing to airway smooth muscle remodeling, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 55(3),450-61(2016). doi: 10.1165/rcmb.2016-0033OC.
33. Yin Y., Long J., Sun Y., Li H., Jiang E., Zeng C., Zhu W. The function and clinical significance of eIF3 in cancer, *Gene*, 5;673,130-133(2018). doi: 10.1016/j.gene.2018.06.034.
34. Zhao M., Mishra L., Deng C.X. The role of TGF-/SMAD4 signaling in cancer, *Int. J. Biol. Sci.*, 12;14(2),111-123(2018). doi: 10.7150/ijbs.23230.
35. Okoye I.S. et al. MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells, *Immunity*, 17;41(1),89-103 (2014). doi: 10.1016/j.immuni.2014.05.019.

36. Clayton A., Mason M.D. Exosomes in tumour immunity, *Curr. Oncol.*, 16(3),46-9(2009). doi: 10.3747/co.v16i3.367.
37. Andreola G., Rivoltini L., Castelli C., Huber V., Perego P., Deho P., Squarcina P., Accornero P., Lozupone F., Lugini L., et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles, *J. Exp. Med.*, 20;195(10),1303-16(2002). doi: 10.1084/jem.20011624.
38. Clayton A., Mitchell J.P., Court J., Mason M.D., Tabi Z. Human tumor-derived exosomes selectively impair lymphocyte responses to interleukin-2, *Cancer Res.*, 1;67(15),7458-66(2007). doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3456.
39. Greening D.W., Gopal S.K., Xu R., Simpson R.J., Chen W. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer, *Semin. Cell Dev. Biol.*, 40,72-81(2015). doi: 10.1016/j.semcdb.2015.02.009.
40. Nabet B.Y., Qiu Y., Shabason J.E., Wu T.J., Yoon T., Kim B.C., Benci J.L., DeMichele A.M., Tchou J., Marcotrigiano J. Exosome RNA unshielding couples stromal activation to pattern recognition receptor signaling in cancer, *Cell*, 13;170(2),352-366.e13(2017). doi: 10.1016/j.cell.2017.06.031.
41. Xi Y., Nakajima G., Gavin E., Morris C.G., Kudo K., Hayashi K., Ju J. Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples, *RNA*, 3(10),1668-74 (2007). doi: 10.1261/rna.642907.
42. Cazzoli R., Buttitta F., Di Nicola M., Malatesta S., Marchetti A., Rom W.N., Pass H.I. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer, *J. Thorac. Oncol.*, 8(9),1156-62(2013). doi: 10.1097/JTO.0b013e318299ac32.
43. Iaconetti C., Sorrentino S., De Rosa S. & Indolfi, C. Exosomal miRNAs in heart disease, *Physiology (Bethesda)*, 31(1),16-24 (2017). doi: 10.1152/physiol.00029.2015.
44. Kawikova I. & Askenase P. W. Diagnostic and therapeutic potentials of exosomes in CNS diseases, *Brain Res.*, 18;1617,63-71(2015). doi: 10.1016/j.brainres.2014.09.070.
45. Khurana R. et al. Identification of urinary exosomal noncoding RNAs as novel biomarkers in chronic kidney disease, *RNA*, 23(2),142-152(2017). doi: 10.1261/rna.058834.116.
46. Takahashi R. U., Prieto-Vila M., Hironaka A. & Ochiya T. The role of extracellular vesicle microRNAs in cancer biology, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1;55(5)6,48-656(2017). doi: 10.1515/cclm-2016-0708.
47. Liu G., Li B. Role of miRNA in transformation from normal tissue to colorectal adenoma and cancer, *J. Cancer Res. Ther.*, 15(2),278-285(2019). doi: 10.4103/jcrt. JCRT_135_18.
48. Ghafouri-Fard S., Shoorei H., Taheri M. miRNA profile in ovarian cancer, *Exp. Mol. Pathol.*, 113,104381(2020). doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104381.
49. Abreu F.B., Liu X., Tsongalis G.J. miRNA analysis in pancreatic cancer: The Dartmouth experience, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1;55(5),755-762(2017). doi: 10.1515/cclm-2017-0046.
50. Wang M., Yu F., Ding H., Wang Y., Li P., Wang K. Emerging function and clinical values of exosomal MicroRNAs in cancer, *Mol. Ther. Nucleic Acids*, 7;16,791-804(2019). doi: 10.1016/j.omtn.2019.04.027.
51. Balacescu O., Dumitrescu R.G., Marian C. MicroRNAs Role in Prostate Cancer, *Methods Mol. Biol.*, 1856,103-117(2018). doi: 10.1007/978-1-4939-8751-1_6.
52. Alipoor S.D. et al. Exosomes and exosomal miRNA in respiratory diseases, *Mediat. Inflamm.*, 2016,5628404(2016). doi: 10.1155/2016/5628404.
53. Li Y., Yin Z., Fan J., Zhang J. Yang W. The roles of exosomal miRNAs and lncRNAs in lung diseases, *Signal Transduction and Targeted Therapy.*, 13;4,47(2019). doi: 10.1038/s41392-019-0080-7.
54. Smolarz M., Widlak P. Serum exosomes and their miRNA load – a potential biomarker of lung cancer *Int. J. Mol. Sci.*, 18;13(6),1373(2020). doi: 10.3390/pak13061373.

55. Bersimbaev R., Bulgakova O., Aripova A., Kussainova A.A., Ilderbayev O. Role of microRNAs in Lung Carcinogenesis induced by asbestos, *J.Pers.Med.*, 3;11(2),97(2021). doi: 10.3390/jpm11020097.

56. Bersimbaev R., Pulliero A., Bulgakova O., Kussainova A.A., Aripova A., Izzotti A. Radon Biomonitoring and microRNA in Lung Cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, 20;21(6), 2154(2020). doi: 10.3390/ijms21062154.

57. Bulgakova O., Kussainova A., Kalibekov N., Serikbayuly D., Zinoveva T., Aripova A., Bersimbaev R. The plasma levels of hsa-miR-19-3p, hsa-miR-125-5p and hsa-miR-155b-5p in NSCLC patients, *Internat. J. Biol.Chem.*, 12, 80-85(2019). doi.org/10.26577/ijbch-2019-v2-10.

Information about authors:

Берсімбай Р.І. – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Клеткалық биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институтының директоры, Жалпы биология және геномика кафедрасының меңгерушісі, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Булгакова О.В. – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті жалпы биология және геномика кафедрасының доценті, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Арипова А.А. – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті жалпы биология және геномика кафедрасының аға оқытушысы, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Каусбекова А.Ж. – Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ Клеткалық биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институтының ғылыми қызметкері, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Токсобаева Г.А. – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті жалпы биология және геномика кафедрасының аға оқытушысы, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Кусаинова А.А. – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Клеткалық биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институтының ғылыми қызметкері, Сәтпаев көш. 2, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Bersimbaev R.I. – Director of the Research Institute of Cell Biology and Biotechnology of the L.N. Gumilyov Eurasian National University, Head of the Department of General Biology and Genomics, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Bulgakova O.V. – Associate Professor of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Aripova A.A. – Senior Lecturer of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kausbekova A.Zh. – Senior Research Assistant of the Research Institute of Cell Biology and Biotechnology of the L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Toksobayeva G.A. – Senior Lecturer of the Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Kussainova A.A. – Research Assistant of the Research Institute of Cell Biology and Biotechnology of the L.N. Gumilyov Eurasian National University, 2 Satpayev str., Nur-Sultan, Kazakhstan.

Вирустық ауруларға қарсы өсімдіктердің бағытталған модуляциясы үшін CRISPR/Cas геномды өңдеу технологиясының заманауи тәсілдері

Аңдатпа. Қазіргі таңда халық санының өсуімен азық-түлік қауіпсіздігі маңызды мәселеге айналды: 800 миллионнан астам адам аштықтан зардап шегеді және миллиондаған адамдар қауіп-қатерге ұшырайды. Дүниежүзілік ауыл шаруашылығы үнемі ауылшаруашылық дақылдарының өнімділігін шектейтін әр түрлі биотикалық және абиотикалық факторлардың әсерінде болады. Саңырауқұлақтар, бактериялар, вирустар, жәндіктер мен паразиттік өсімдіктер болып табылатын биотикалық стресстер егіннің қатты ысырабын тудыруы мүмкін. Өсімдік пен вирус арасындағы молекулалық әрекеттесулер қожайын өсімдіктің антивирустық қорғаныш жүйесі мен интерференцияны өтудің провирустық механизмі туралы түсінік алудың негізгі модельдерінің бірі болып табылады. Осы мақалада тұрақтылық гендерінің негізгі класстары, РНК-интерференция мен бактериялар мен архейлердің РНК-жанамаланған адаптивті иммундық жүйесі - CRISPR/Cas қарастырылған. Соңғы зерттеулер өсімдіктердегі антивирустық тұрақтылықты иемденуде CRISPR/Cas жүйесінің маңызды рөлін көрсетуде.

Осы мақалада вирус-өсімдік әрекеттесуін реттеуінде практикалық қолданысты мүмкін ететін өсімдіктер биотехнологиясының соңғы жетістіктеріне назар аударылған.

Түйін сөздер: өсімдіктердің иммунитеті, төзімділік, өсімдіктер вирустары, CRISPR/Cas9, CRISPR/Cas13.

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-64-85

Кіріспе

Фитопатогендер дүниежүзінде өнім сапасы мен шығымдылығын күрт төмендетіп, ауылшаруашылық дақылдарының өндірісіне айтарлықтай зиян келтіреді. Саңырауқұлақ пен бактериалық патогендерге қарағанда (15%), вирустардан шығындар тек 3-7%, дегенмен өсімдіктердің вирустық ауруларының таралуы жылына 60-80 миллиард АҚШ долларына жететін экономикалық шығындарға әкелуі мүмкін [1]. Қазіргі уақытта әлемде химиялық пестицидтер немесе вирустарды тасымалдайтын насекомдардан қорғайтын физикалық кедергілер қолданылуда [2]. Алайда, вирустық аурулардың таралуымен туындаған эпидемиологиялық факторлар, вирустардың қарқын эволюциясы мен вирустық векторлар миграциясының тұрақты динамикасы қазіргі таңда өсімдіктердің вирустық ауруларымен күресудің тиімді, әрі ұзақ мерзімді стратегиялардың жоқтығына әкеледі [3].

Вирустарға тұрақты өсімдіктердің сорттарын өндіріске енгізу вирустық аурулардан пайда болған шығындарды төмендетудің экономикалық ең тиімді әдістерінің бірі болып табылады. Ғаламдық азық-түлік қауіпсіздік қатерінің жағдайы вирустарға төзімді және жоғары тиімді ауылшаруашылық дақылдарының сорттарын жасау талап етеді. Дәстүрлі вирустарға қарсы әдістемелік стратегиялар ауылшаруашылық дақылдарының сапасын жақсартады, дегенмен олар материалдық және жұмыс жағынан айтарлықтай көп шектеулер келтіреді. Өсімдіктер мен вирустар әрекеттестігінің молекулалық және биохимиялық механизмдерін егжей-тегжейлі зерттеу, сонымен қатар заманауи биотехнологияның дамуы өсімдіктердің вирустарға қарсы тиімді иммундық төзімділікті ынталандырудың жаңа болашағын ашты.

Өсімдік-вирус әрекеттестігінің механизмдері.

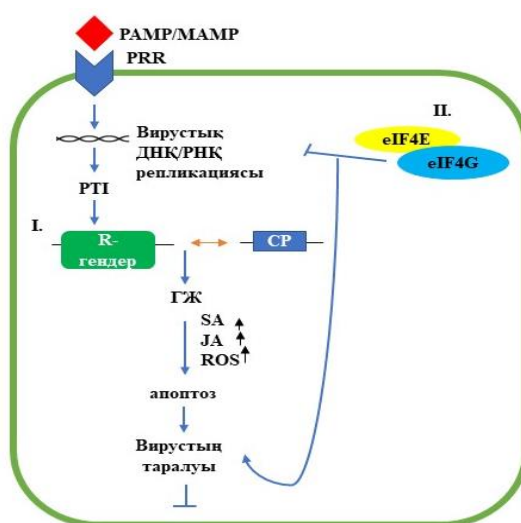
1985 жылы патогендермен туындаған төзімділік (pathogen derived resistance, PDR)

теориясы алғаш рет ұсынылған. Өсімдік клеткаларында фитопатогеннің генетикалық элементтерінің экспрессиясы вирустық патогенге төзімділікті қалыптастыратыны негізгі идеясы болып табылады [4]. Кейін вирустық гендерді трансформациялау арқылы, өсімдіктерде вирустарға қарсы бағдарлы төзімділікті жасау үшін зерттеулер жүргізілді, бұл вирусқа төзімді ауылшаруашылық дақылдардың коммерциялық нарығының сәтті дамуына әкелді [5].

Вирустардың сәтті зақымдауына өсімдіктердің көпсатылы механизмдерінің жүйесін жеңіп шығу қажет. Осы механизмдердің кейбірі әмбебап және бұл туа біткен иммундық жүйе көптеген вирустарға әсер етеді. Белгілі бір вирустар үшін басқа да тұрақтылық гендерінің активациясы сияқты арнайы механизмдер бар. Фитовирустардың барлық өсімдіктерді зақымдай алмауының себебі әмбебап қарсы тұрушылық төзімділік механизмімен байланысты (NHR) [6]. NHR механизмі мен патоген тану әдісіне қарай екі негізгі типке бөлуге болады. Бірінші типке организмге патогеннің енуіне жол бермейтін негізгі қорғаныштық механизмі жатады. Бұл типке жасуша қабырғасының қалыңдауы мен әр түрлі екінші реттік метаболиттердің биосинтезін жатқызуга болады. NHR екінші типі жергілікті некроздың индукциясымен және патогеннің бірінші тұрақтылық типін өткеннен соң активацияланады [7]. Ары қарай патоген белгілі бір құрылымдар немесе патогенмен байланысты ақуыздармен анықталынады. Микроорганизмдер (MAMP) /патогендермен (PAMP) байланысты молекулалық паттерннің анықталуы фитопатогендердің консервативті құрылымдарын анықтайтын өсімдіктердің плазматикалық мембраналарындағы паттернді анықтайтын рецепторлар (PRR) арқылы жүзеге асырылады [8]. Вирустар NHR бірінші типін өте алмағандықтан, механикалық инокуляция немесе насекомдар, нематодалар мен саңырауқұлақтар сияқты тасымалдаушы векторлар арқылы жасуша қабырғасының физикалық барьерін өте алатын қасиетке ие.

Фитовирустардың анықталуы өсімдіктердің апопластында өтпейді, дегенмен Корнег және басқалары фитопатогендердің танылуында рецептор-тәрізді киназалардың (RLK) қатысуы мүмкін екенін көрсетті [9].

Фитовирустар өсімдіктерде арнайы төзімділік гендері сияқты қорғаныштықтың тағы бір деңгейімен кездесуі мүмкін. Бұл гендер тек туыстас вирустарға ғана әсер етеді. Тұрақтылық гендері екі класқа жіктеледі: NB-LRR типінен тұратын доминантты гендер мен жартылай тұрақтылықтың рецессивті гендері (Сурет 1). *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) қарсы қызанақтан клоңдалған *Ty-1* тұрақтылық генінің сипаттамасы доминантты гендердің мысалы болып табылады. *Ty-1* гені бар қызанақ өсімдіктері TYLCV инокуляциядан соң, өсімдік жасушаларында вирустың төмен титрлары болғанымен, фенотиптік белгілерді көрсетпейді [10].



1 сурет. Доминантты және рецессивті гендердің қабылдағыштығының негізіндегі вирусқа қарсы стратегиялар

I. Авируленттілік факторы (CP) мен R генінің өнімі арасындағы әрекеттесуіндегі доминантты тұрақтылық өсімдікке вирус енген соң, бірнеше күнде әсер етеді. ГЖ-пен байланысты феномен вирустық патогенді инфекцияланған және көрші клеткаларда шектейді.

II. вирустың цикліне қажет қожайын факторларының (eIF4E/4G) болмауымен сәйкес рецессивті тұрақтылық өсімдіктің барлық колонизациясы кезінде қабылдамаушы, пассивті, әрі тиімді төзімділікті көрсетеді. Бұндай тұрақтылық белігі бір клеткалық фактордың қажеттілігі бар кездегі зақымдануға төзімділікті қамтамасыз етеді.

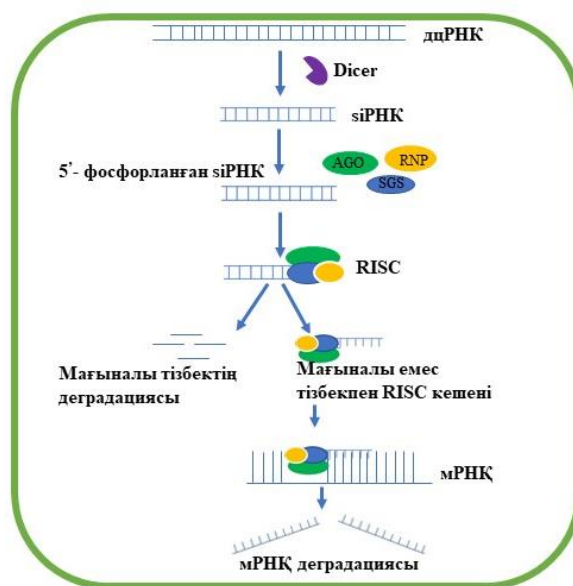
Доминантты R-гендер гиперсезімтал жауапты (hypersensitive response, HR), немесе экстремальды жауапты (extremal response, ER) индукциялайды. Бұл екі жауап инфекцияланған жасушаларға бағдарланған өсімдіктердегі бағдарламаланған жасушалық өлім реакциясын қамтып, патогеннің жүйелі таралуына жол бермейді. Бұл реакция салицил (SA) және жасмон (JA) қышқылдары, натрий оксиді (NO), этилен, оттегінің белсенді формалары (ROS), Ca²⁺ иондарының синтезі және патогенезбен байланысты PRP-гендер экспрессиясының активациясын қамтиды. Бірақ, SA, ROS және Ca²⁺ вирус табиғаты бар патогендерге қарсы тұрақтылықтың биохимиялық механизмдерінде қатысатыны анықталды [11]. Гиперсезімталдық жауап тұрақтылық жауабының бөлімі ретінде саналған, бірақ қазіргі R ақуызының сигналдарды тарату зерттеулері бойынша, HR және тұрақтылық жеке физиологиялық жолдар екені белгілі болды [12]. Өсімдіктердегі вирустарға қатысты тұрақтылығында анықталған доминантты гендер өсімдіктердің жағымсыз фенотиптік белгілерімен байланысты. Мысалы, *A. thaliana* өсімдігінде SA жоғары деңгейін жинақтайтын ssi2 мутанты CMV-ге тұрақтылықты бергенімен, аномальды ергежейлікті көрсетеді [13]. Демек, өсімдіктердің осындай тұрақтылық гендерінің өсімдіктердің антивирустық инженериясында құндылығы жоқ.

Рецессивті тұрақтылық қожайын өсімдіктің қабылдағыштық факторларымен жанамаланған [14]. Өсімдіктердің вирустары тек өзінің вирустық РНҚ трансляциясына емес, сонымен қатар басқа инфекциялау процестерін жеңілдету үшін қожайын жасушасының трансляция факторларын ертеді, соған байланысты қожайын өсімдіктің трансляциямен байланысты факторлары провирусты факторлар ретінде анықталынады. Тұрақтылықтың рецессивті гендері негізінен трансляция инициациясының факторлары eIF4E/eIF4G туысын кодтайды және өсімдіктердің потивирустар тұқымдасының таралуын ингибирлеу үшін қолданылды [15]. 4E/4G трансляцияға қажет вирустық транскриптердің кәп-құрылымымен байланысады. Потивирустардың құрылымында кәп-құрылым болмағандықтан, бірақ кәпке тәуелсіз VPg ақуызы транскриптерді трансляцияға ашық етеді. Сондықтан трансляция үшін eIF4E/eIF4G пен кәп-тәрізді құрылымдардың әрекеттесуінің талабы қожайын организмді таңдаудың қатаң сұрыпталуының барын көрсетеді. Тұрақтылықтың рецессивті S-гендері доминантты R-гендерге қарағанда, патогендерге жоғары тұрақтылықты қамтамасыз етеді, дегенмен бұл гендер қожайын геномынан бөлінген кезде плейотропты әсерді көрсете алады [16].

Ауылшаруашылық дақылдарда TYLCV және басқа да вирустармен күресте рецессивті геномды мутациялардың тактикасы мен тұрақтылық гендерінің енгізілуі қолданылады [10,17]. Алайда, рецессивті тұрақтылық негізіндегі потивирустар мен оның туыстас вирустарына қарсы стратегиялар eIF4 пен оның гомологтарының қолданылуына тәуелді. Сондықтан басқа да экономикалық маңызды өсімдіктер вирустарына қарсы тиімді генетикалық ресурстарды алу үшін, қожайын организмнің қабылдағыштық гендерін көп түрлерін анықтап, қолдану қажет.

Жасуша ішілік вирустық РНҚ молекулаларының супрессиясы вирустардың шабуылына алғашқы туа біткен жауаптың бірі болып табылады. Өсімдіктердегі РНҚ сайленсингінің механизмі алғаш рет 1990 жылы анықталды [18]. Бұл механизм РНҚ-интерференция деп те аталынады және ол экзогенді екі тізбекті РНҚ молекулалары бар болған кезде активацияланады да, транскриптердің трансляциясын немесе олардың сиквенс-спецификалық гидролизін индуцирлейді. РНҚ-интерференцияға Dicer-like (DCL), Argonautes (AGO), РНҚ-тәуелді РНҚ-полимераза (RDR) және гендердің супрессорлары сияқты ақуыздар (SGS) мағыналы емес

РНҚ-ның жойылуы мен оның деградациясымен немесе гистондар мен ДНҚ модификаторлардың тартылуы арқылы экзогенді гендер экспрессиясының тежелуіндегі реттік сатыларға қатысып, мақсатты гендердің транскрипциясын ингибирлейді [19–21]. Екі тізбекті РНҚ-жанамаланған сайленсинг өсімдіктердің дамуы мен өсуіндегі регуляторлық рөлден басқа, қожайын өсімдіктің вирусқа қарсы қорғаныштық механизмі де бола алады (Сурет 2) [20]. Вирустарға төзімді трансгенді өсімдіктерді құрастыруда әр түрлі РНҚ-бастаушылардың негізінде әдістемелер жасалынды [22]. Қазіргі кезде фитовирустармен күресуде РНҚ сайленсингі технологиясы 60 экономикалық маңызды өсімдіктердің вирустарына қарсы, атап айтқанда *Paraya ringspot virus* (PRSV) [23], *Plum pox virus* (PPV) [24–26], *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) [27,28], *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) [29] және т.б. сәтті қолданылды.



2 сурет. РНҚ-жанамаланған гендер сайленсингі

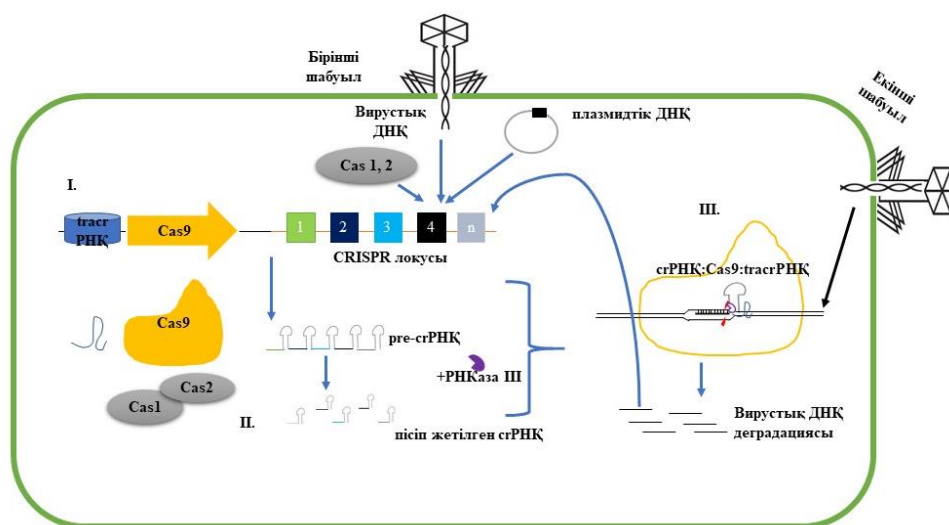
РНҚ-интерференция инициация фазасынан басталады; Dicer экзогенді екі тізбекті РНҚ-ны ыдыратады, соның нәтижесінде қысқа интерференциялаушы РНҚ молекулалары - (small interfering RNAs (siRNAs)) пайда болады. Кейін орындау сатысы басталады: siРНҚ индукцияланған РНҚ сайленсингінің кешені сайленсинга (RNA-induced silencing complex, RISC) деп аталынатын ақуызды комплекспен байланысады, бұл siРНҚ-ның мағыналы тізбегінің деградациясына әкеледі, ал мағыналы емес тізбегі мРНҚ-нысанының комплементарлы тізбегімен байланысады да, мақсатты РНҚ-ның танылуы мен оның гидролизіне әкеліп, гендер сайленсингін қамтамасыз етеді.

Аталған мысалдардың барлығы өсімдіктердің генетикалық трансформация әдістері арқылы алынған. Қоғамдық үрейді алдын алу үшін, өсімдіктердің вирусына қарсы РНҚ сайленсингін іске қосатын жалаңаш екі тізбекті РНҚ-ны экзогенді қолдануды қосатын әдістер жасалынды [30–32]. 2017 жылы Mitter және т.б. [33] тасымалдаушы ретінде көпқабатты нанопарағы бар екі тізбекті РНҚ тасымалдаудың жаңа әдісін жасап, темекі өсімдіктерінде *Cucumber mosaic virus* (CMV) қарсы тұрақтылықты іске асырды.

Осылайша, РНҚ-интерференция негізіндегі технологияларды қолдану вирусқа қарсы тұрақтылықтың дәстүрлі селекциясында туындайтын шектеулерден шыға алатын жоғары мүмкіндікке ие: тек вирус реттілігінің ақпараты керек (геном реттілігі туралы аз ақпараты бар дақылдарға); генетикалық будандастыру мен сегрегацияланған ұрпақты (көбею уақытын азайту) алудың қажеті жоқ; екі тізбекті РНҚ-ны экзогенді қолдану арқылы РНҚ сайленсингін индукциялау (вирустық пандемиялар кезінде).

Өсімдіктердің вирустары ко-эволюция нәтижесінде РНҚ-интерференцияға қарсы шараларды ойлап тапты. Осындай ең тиімді құбылыстардың бірі вирустармен РНҚ-интерференциясының ақуыз-супрессорларын кодтауы болып табылады [7,34]. Өсімдіктердегі РНҚ сайленсинг механизмін басумен қатар, супрессорлық ақуыздар DICER және RISC белсенділіктерінің ингибирленуін, екі тізбекті РНҚ/siРНҚ секвестрациясы мен AGO ақуыздарының тұрақсыздануы сияқты стратегияларды да қолдана алады [35–37]. Ақуыз-супрессорлардың ең жақсы зерттелгені мөлшері 19 қДа болатын *Tomato Bushy Stunt Virus*-ның (TBSV) P19 ақуызы [38,39]. P19 ақуызының мөлшерге тәуелді әсерлері *N. Benthamiana* мен *Vigna unguiculata* өсімдіктерін вирустық мутанттарын инокуляциялау арқылы зерттелінген. Вирустық РНҚ-ның жинақталуы мен РНҚ-интерференцияның реакциясы GFP ақуызының экспрессиясын визуализациялау мен siРНҚ/P19 кешенінің түзілуін анықтау арқылы зерттелінген [40,41].

Вирустық ауруларға төзімді өсімдіктерді жасаудың жаңа, тез дамып келе жатқан бағыттарының бірі геномды өңдеу технологиясы болып табылады. РНҚ-интерференция сияқты, кластерлі жиі қиылысатын локустардың қысқа палиндромды қайталамалары (CRISPR) мен CRISPR-бірлескен Cas-ақуыздар вирустар мен бактериялар мен архейлердің басқа мобильді генетикалық элементтеріне қарсы жүре пайда болған иммунитетті қалыптастырады. Бұл CRISPR реттіліктері бактериялардың иммундық жүйесінің бір бөлігі болып, шамамен 40% бактериальды геномдар мен 70% архейлердің секвенирленген түрлерінде эндогенді бейімдеуші иммунитетті қамтамасыз етеді [42,43]. Осындай фагтар мен плазмидалар туралы «иммундық жад» CRISPR массивінде қысқа спейсерлік реттіліктер түрінде сақталады. Бұл реттіліктер қайталамалар арасында интеркалицяланып, CRISPR/Cas иммунитетінің нысанасын анықтайды. Локус оперондардағы спейсер-қайталама матрицасымен қоса, CRISPR-бірлескен Cas-гендерінен тұрады. Клеткаға фагтың жаңа енуі кезінде, спейсер-қайталама матрицасы ұзын пре-CRISPR-РНҚ (пре-crРНҚ) түрінде қайталанып, кейін транскрипт кішкентай бағыттаушы crРНҚ молекулалары түрінде жеке спейсер-қайталама бірліктерге трансформацияланады. Осы молекулалар, нуклеотидтердің комплементарлығы негізінде, РНҚ-басқарылатын Cas-нуклеазаларды бөгде нуклеин қышқылдарын ыдыратуға бағыттайды. Осылайша, CRISPR жүйесі вирустық немесе плазмидтік ДНҚ-нысанасын сиквенске арнайылығы бойынша ыдыратып, инфекцияны тоқтатады. РНҚ-интерференция сияқты, CRISPR/Cas жүйесінің ерекшелігі мақсатты ДНҚ фрагментіне комплементарлы нысанаға нуклеазаны тиімді бағыттайтын crРНҚ молекулаларының арнайылығына негізделген (Сурет 3).



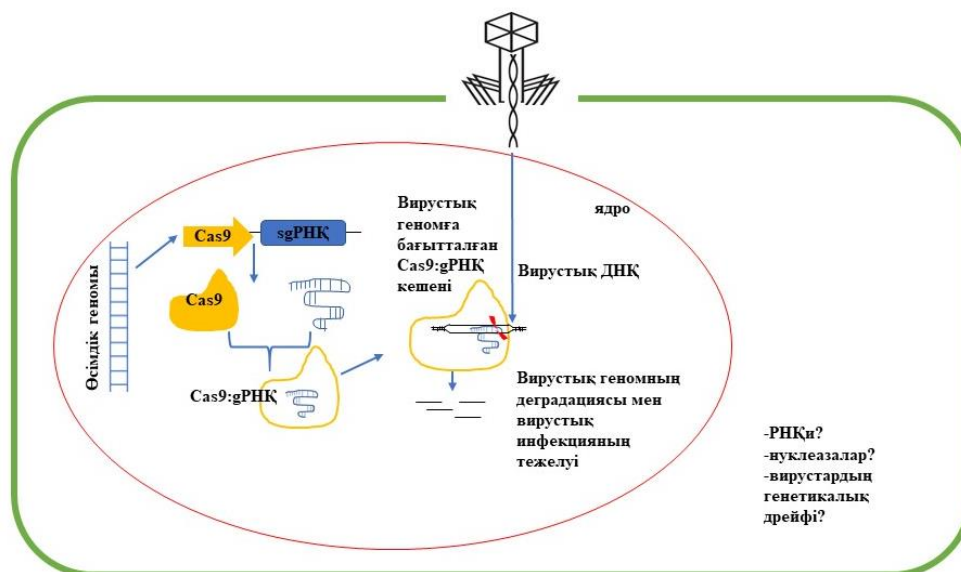
3 сурет. Бактериялық клеткаларындағы бейімдеуші иммунитет - CRISPR/Cas жүйесі

CRISPR спейсері интеграциясының бірінші сатысы: патогеннің бірінші басып кіруі кезінде, бөгде ДНҚ-ның жаңа реттіліктері ұсталып, қожайынның CRISPR локусына жаңа спейсерлер түрінде кірістіріледі. Осы сатыда Cas1 және Cas2 спейсер түзілуіне қатысады. Екінші сгРНҚ процессінгі сатысы: сгРНҚ басында CRISPR массивінің басым бөлігін қамтитын ұзын бір транскрипт ретінде транскрипцияланады. Кейін осы транскрипт Cas ақуыздарымен ыдырап, жетілген сгРНҚ түзіп транскрипцияланады. Үшінші сгРНҚ-жанамаланған интерференция: келесі инфекциялар кезінде CRISPR/Cas жүйесі енген вирустық геномның комплементарлы реттілігімен байланысу үшін, эндонуклеазаны немесе рибонуклеазаны бағыттап, нәтижесінде мақсатты геномды ыдыратады немесе кеседі.

Өсімдік клеткаларындағы CRISPR/Cas-жанамаланған тұрақтылық.

Қазіргі кезде CRISPR жүйесі екі класқа, алты подтипке классификацияланады [44,45]. Осы кластардың негізгі айырмашылығы мақсатты реттіліктің эффекторлы ыдырау табиғаты болып табылады. Бактериялар мен архейлерде табылған бірінші класс (I, III, IV типтері) мультисуббірліктік эффекторлы кешендерді түзу үшін, бірнеше Cas-ақуыздары мен сгРНҚ қолданады. Екінші класс (II, V, VI типтері) бір көпдоменді ақуызды қолданып, негізінен тек бактерияларда кездеседі [46]. Ең жақсы зерттелген CRISPR/Cas9 жүйесі екінші класс, тип II жататын инвазивті молекулаларға қарсы бағытталған *Streptococcus pyogenes*-тің иммунды механизмінен бөлініп алынған [47]. Cas9 ақуызынан, қысқа РНҚ - trасРНҚ мен сгРНҚ молекулаларынан тұратын бұл кешен *in vivo* жағдайында клеткаға енген плазмидтік немесе вирустық ДНҚ-ны кесе ыдырата алады. Ыдырау мотив деп аталынатын протоспейсермен шектескен қысқа нуклеотидтік реттіліктің (PAM) барына тәуелді [48].

Соңғы жылдары CRISPR/Cas9 механизмі эукариоттық вирустармен, әсіресе вирустық геномға әсер ету арқылы өсімдіктердің ДНҚ-вирустарының зақымдануына қарсы күресте қолданылды [49,50]. Әдеттегідей, өсімдіктердің вирустарымен күресінде CRISPR/Cas технологиясының негізгі екі стратегиясы пайдаланылады. Солардың бірі инвазивті вирустардың репликациясы мен инфекциялануын басу үшін вирустық геномның деградациясына тура бағыттау болып табылады. Екіншісі – өсімдіктердің иммунитетін жоғарылату мен вирустық инвазияны тежеу мақсатында вирустық инфекция немесе вирустың өмірлік циклына қажет қожайынның қабылдаушылық факторларымен манипуляция жасау (Сурет 4).



Сурет 4. Өсімдік клеткаларындағы CRISPR/Cas9-жанамаланған вирустық кірісу

Өсімдіктердің ДНҚ-вирустары өсімдік клеткаларына енген соң, вирустар ядрода өзінің геномын репликациялайды. CRISPR/Cas9 механизмінің gPHҚ мен Cas9 сияқты компоненттері өсімдік геномында экспрессияланып, Cas9:sgPHҚ кешенін түзеді. Cas9:sgPHҚ кешені комплементарлы нысана сайттарында вирустық екі тізбекті ДНҚ-ға бағытталған. Бұл кешен екі тізбекті ажыраудың (DSB) пайда болуы арқылы вирустық геномды ыдыратады. Бұл DSB ұштардың гомологты емес қосылуы (NHEJ) арқылы қайта қалпына келе алады. DSB түзілуі вирустық геномның деградациясына да әкеле алады.

Осы технология модельді өсімдіктерден басқа, арпа да қолданылып, *Wheat dwarf virus* (WDV) вирусына жоғары тиімді тұрақтылықты берді [51]. Осы механизмнің ерекшелігі эукариоттық вирустардың CRISPR иммундық қорғанышына қарсы тұру қабілеттілігінің жоқтығы болып табылады. Алайда, CRISPR/Cas9 жүйесінің шектеушілік сипаттамасына бұл жүйенің тек екі тізбекті ДНҚ-ны ыдырата алуы, яғни тек ДНҚ-вирустарына бағытталуы жатады [52].

Ең айқын ДНҚ-геномды вирустардың өкілдері *Geminiviridae* мен *Caulimoviridae* тұқымдастарына жатады. Олардың, сәйкесінше, 485 түрі бір тізбекті ДНҚ мен 85 түрі екі тізбекті ДНҚ құрамды болып табылады. Демек, агроөнеркәсіптегі қауіптілікті алдын-алу мақсатында геминивирустар мен кулимовирустардың ДНҚ-на қарсы технологияларды жасауға бағытталған зерттеулер үлкен қызығушылық танытуда. Манипуляцияда артықшылықтары бар CRISPR/Cas технологиясы өсімдіктердің антивирустық инженериясында тез танымал болды. Осылай *N. benthamiana* мен *A. thaliana* сияқты модельді өсімдіктерде *Beet severe curly top virus* (BSCTV), *Bean yellow dwarf virus* (BeYDV), *Cotton leaf curl Multan virus* (CLCuMuV) вирустарына қарсы резистенттілік орнатылды. Жоғарыда айтылып кеткен вирустардың ДНҚ интерференциясының тиімділігіне дара гидтік РНҚ бар CRISPR/Cas құрылымдары жасалынды. Бұндай құрылымдар, сәйкесінше, инверттелген қайталамаларға (inverted repeats, IR), репликация мен трансляциямен байланысты сайттарға (RBS, домаланған сақина типі бойынша репликация үшін қажет Рер-тің үш мотиві) және fsGFP бағытталған [53–55]. Алайда, Ali және т.б. қызанақ пен *N. Benthamiana* өсімдік клеткаларындағы вирустық титрлердің деңгейін салыстыра отырып, *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) вирусының репликазасы мен капсидті ақуызына бағытталған гидтік РНҚ-ға қарағанда, екінші реттік құрылымға бағытталған гидтік РНҚ-лар *Cotton leaf curl Kokhran virus* (CLCuKoV), *Merremia mosaic virus* (MeMV) сияқты геминивирустардың одан да тиімді сайленсингін көрсететінін анықтады [56] [57]. Бұл деректер геминивирустардың IR емес оқудың ашық рамкасындағы (ORF) CRISPR/Cas9-индуцирленген варианттары репликация мен жүйелі қозғалуға қабілеттілігін, яғни CRISPR/Cas9 механизмінен қорғана алатынын көрсетті.

CRISPR гендерінің транзистентті экспрессиясы бастаушысы болып табылатын, бағыттаушы РНҚ бар CRISPR/Cas9 құрылымдарын тасымалдауға арналған әр түрлі жүйелерді қолдану, өсімдік клеткаларындағы трансгендерге қарсы қорғаныштық механизмдерінің іске қосылуына әкелуі мүмкін. Өсімдіктердегі РНҚи қорғаныштық механизмінің жұмыс істеуі геномды өңдеу мезанизміне әсер ете алады. Мао және т.б. *Arabidopsis* өсімдіктерінде AP1 мен TT4 гендерін өңдеуде CRISPR/Cas9 тиімділігін TBSV вирусының P19 супрессор-ақуызының коэкспрессиясы арқылы РНҚи басу жолымен жоғарылатуға болатынын көрсетті [58].

Эукариоттық вирустардың эволюция процесі прокариоттық Cas9 бар кезде өтпеген, демек, бұл оларда Cas9 нуклеазалардан қорғаныштық табиғи механизмдері қалыптаспағанын айтады. Бірақ, Ali және т.б. [59] кейбір геминивирустар CRISPR/Cas9 процесінен құтыла алатын қасиеті бар вирустық мутанттарды түзей алатынын көрсетті (Кесте 1).

CRISPR/Cas механизмі туралы ақпараттың даумына байланысты *in vivo* жағдайында басқа да бактериалды РНҚ штамдарынан Cas ақуыздарының түрлі итерациясы бөлініп алынды. 2013 жылы *Francisella novicida*-дан бөлініп алынған Cas9 ақуызының нұсқасы (FnCas9) РНҚ реттіліктеріне бағдарлай алатыны анықталды [60]. Бұл геномды өңдеу технологиясын қолдану арқылы РНҚ-вирустарға қарсы бағытталған тұрақтылықты орнату әдістемелерін жасауға

мүмкіндік берді. Price және т.б. CRISPR/FnCas9 жүйесін гепатома клеткалық линияларында бір тізбекті оң РНҚ бар гепатит С вирусының геномына қарсы бағыттаған. Гепатит С вирусы геномының 5/- немесе 3/-трансляцияланбайтын аймақтарына бағытталған FnCas9, sgРНҚ кешендерінің транзистентті экспрессиясы бақылау өсімдігіне қарағанда, вирусты ақуыздың экспрессиясының 50-60%-ға төмендегеніне әкелді [60]. Кейін FnCas9 өсімдіктердің РНҚ вирустарына да бағытталып, сәтті бағдарламаланған болатын. Бұл жүйе CMV және TMV вирустарына бейімдендірілді. Арнайы sgРНҚ реттілігімен басқарылған CRISPR/FnCas9 жүйесі вирустың РНҚ-на бағытталып, өсімдіктерде оның зақымдауын 40-80%-ға төмендететіні көрсетілді [61]. Вирустың ингибирленуі FnCas9 арқылы гидролиздің қабілеттілігі емес, мақсатты РНҚ-ның байланысуымен жүретінін айтқан жөн.

Кесте 1

Өсімдіктердің вирустарына қарсы CRISPR / Cas9 жүйесін қолдану

Cas9	Өсімдік	Вирус	Мақсатты реттілік	Сілтемелер
SpCas9	<i>Cassava</i> <i>N. benthamiana</i>	ACMV	ACMV genome	[62]
SpCas9	<i>S. lycopersicum</i> <i>N. benthamiana</i>	TYLCV	TYLCV genome	[57]
SpCas9	<i>Arabidopsis</i>	TBSV	AP1, TT4	[58]
FnCas9	<i>N. benthamiana</i>	CMV	CMV genome	[61]
FnCas9	<i>Arabidopsis</i>	TMV	TMV genome	[61]
Cas9	rice	RTSV	eIF4G	[63]
Cas9	<i>N. benthamiana</i>	MeMV	IR, CP, Rep	[56]
Cas9	<i>N. benthamiana</i>	BeYDV	LIR, Rep/RepA	[54]
Cas9	<i>N. benthamiana</i>	BSCTV	BSCTV genome	[53]
Cas9	<i>Arabidopsis</i>	BSCTV	BSCTV genome	[53]
Cas9	<i>Arabidopsis</i>	potyvirus	eIF9(iso)4E	[64]
Cas9	<i>Cucumis sativus</i>	CVYV	eIF4E	[65]
Cas9	<i>Cucumis sativus</i>	PRSMV-W	eIF4E	[65]

Қысқартулар: ACMV - *African cassava mosaic virus*; TYLCV - *Tomato yellow leaf curl virus*; TBSV - *Tomato bushy stunt virus*; CMV- *Cucumber mosaic virus*; TMV- *Tobacco mosaic virus*; RTSV- *Rice tungro spherical virus*; MeMV- *Merremia mosaic virus*; BeYDV- *Bean yellow dwarf virus*; BSCTV- *Beet severe curly top virus*; CVYV- *Cucumber vein yellowing virus*; PRSMV-W - *Papaya ring spot mosaic virus-W*; AP1 - *apetala1*; TT4 - *transparent testa glabra4*; eIF4G, eIF9(iso)4E, eIF4E - translation initiation host factors, IR – intergenic region; CP – capsid protein; Rep – replication-associated protein; LIR – long intergenic region.

Геномды өңдеу технологиясының функционалды тиімділігіне қарамастан, вирустар CRISPR/Cas9 жүйесіне қарсы тұра алады. Өсімдіктерде тұрақты вирустық резистенттілікті модульдеу үшін, осы табиғи тұрақтылықтың шекаралары мен жиілігін анықтау өте маңызды. Сонымен қатар, CRISPR/Cas9 жүйесі арқылы вирустық геномға бағытталу екі тізбекті ажырауға әкеледі. Берілген ақаулар қателіктерге бейім ұштардың гомологты емес қосылуы (NHEJ) арқылы қалпына келеді. Осылайша, репарацияның бұл механизмі CRISPR/Cas9 тану механизмін өте алатын вирустық нұсқалардың генерациясына әкелуі мүмкін. Бұл PAM мен спейсер реттіліктерімен қоса, Cas9 белсенділігіне қажет маңызды реттіліктеріне сәйкес РНҚ реттіліктерінде мүмкін мутацияларға байланысты. Вирустар эволюцияның жоғары

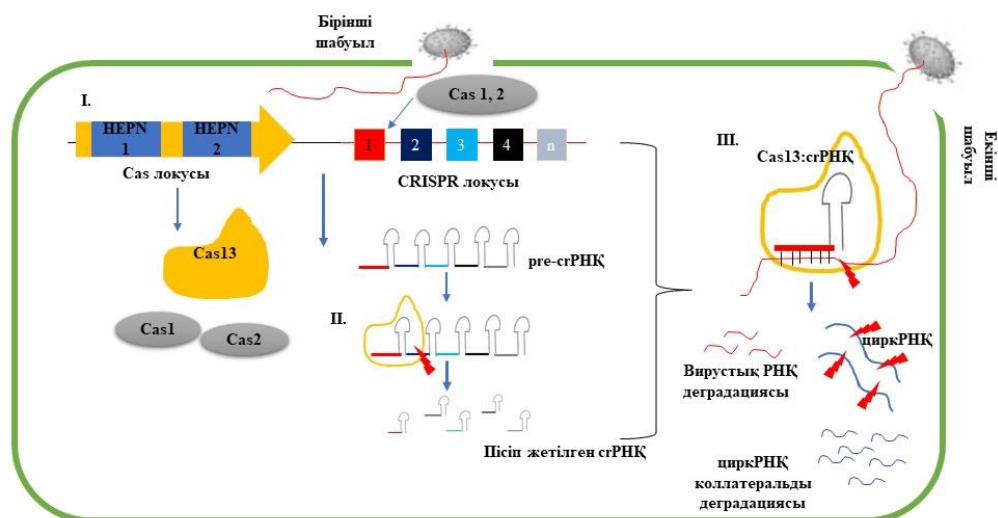
жылдамдығына ие болғандықтан, және CRISPR/Cas9 PAM қасында спейсердің бастапқы ретгіліктеріндегі сәйкессіздіктерге жол бермегендіктен, осы аймақтағы кез келген мутация CRISPR/Cas9 механизмінің вирусқа бағытталу қасиетін шектеп немесе тіпті жояды. Бұл сәйкесінше геномды өңдеу процестерін өте алатын вирустық нұсқалардың пайда болуына әкеледі.

A. thaliana өсімдігінде CRISPR/Cas9 жүйесін қолдану кезінде геномды өңдеу жүйесін пайдалануда айтарлықтай шектеулер бере алатын сиквенс-спецификалық емес эффектілер белгілі [66]. Сонымен қатар, sgРНК-ғы екі тізбекті РНК домендерінің екінші реттік құрылымдарының бар болуы, sgРНК мөлшерін төмендете алатын siРНК генерациясына әкеліп келеді. Бұл мүмкіндікті CRISPR/Cas9-дың мақсатты ретгіліктерін жасау кезінде қарастыру керек. Осылайша, NGS негізіндегі жаңа платформаларды, атап айтқанда Perturb-Seq (CRISPR-Seq) [67], Guide-Seq [68] dCas9-бен иммунопреципитацияны [69], потенциалды мақсатты емес эффектілерді болжау мақсатында қолдануға болады. Cas-ақуыздарының жұмысының оптимальды ақуызына әсер ететін қосымша талаптарының біріне жоғары температура жатады. *A. thaliana* өсімдігінде қайтамалы жоғары температуралы өңдеулер Cas9 тиімділігінің шұғыл жоғарылауына әкеледі [70]. Дәл солай, *A. thaliana* (29 °C) мен жүгеріде (28 °C) Cas12a тиімді өңделуіне температуралық өңдеулер тиімді әсер етеді [71].

Қазіргі кезде Cas ақуыздарының жаңа нұсқалары белсенді іздестірілуде. Бұл вирустардың тез эволюциясы салдарынан CRISPR/Cas гендерді өңдеу механизмінен өте алуына байланысты ең күрделі мәселелерге көңіл бөлу мақсатында платформаларды жасауға мүмкіндік береді. Осылайша, геномды өңдеу технологиясы, әсіресе РНК-құрамды вирустарға бағытталған технологияларды жасау өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Өсімдіктерді зақымдайтын вирустардың 70%-ы осы класқа жататынын айтқан жөн.

Қазіргі таңда екінші класқа жататын Cas жүйесінің жаңа типтері ашылды. Оларға Cas12 деп те аталынатын Cpf1 ақуызы жатады [72]. Кейін эукариоттық клеткаларда жоғары белсенділікті көрсететін Cpf1-дің екі ортологы (Cas12b, Cas12c) анықталды [73]. Cas12 ақуыздары RuvC-сияқты доменнің бар болуына байланысты CRISPR/Cas жүйесінің екінші класының VI-B типіне жатқызылды. Cas12 ақуызы tracrРНК-ны қажет етпейді және бір тізбекті РНК-мен басқарылады. Бұл жаңалық гендік инженерияның дамуына маңызды. Себебі Cas9 ақуызымен туындаған тұйық ажырауларға қарағанда, сатылы ажыраудың генерациясы мен әр түрлі PAM-дың қажеттілігі орасан манипуляциялар үшін құралдардың жиынтығын кеңейтеді.

2015 жылы Smakov пен басқалары [74] биоинформатикалық анализдің көмегімен C2c2 (Cas13) деп аталған Cas-ақуыздарының екінші класының жаңа типін болжамдады (Сурет 5). Берілген типте прокариоттар мен жоғары эукариоттардың нуклеотид байланыстырушы екі домені (HEPN) бар. HEPN тек РНКазалық белсенділікпен байланысты, ал пре-crРНК процессингі helical-1 (REC) N-ұшты доменінде өтеді [75]. Бұның барлығы Cas13 нуклазасының бір тізбекті РНК-ны арнайы ыдырата алатын жеке эффекторлы РНК-мен басқарылатын мақсатты ақуыз ретінде жұмыс жасай алатынын көрсетеді. HEPN доменіндегі, әсіресе гистидин мен аргининнің каталитикалық қалдықтарындағы мутациялар Cas13 ақуызының ыдырату белсенділігін ингибирлеп, Cas13a (deadCas13a) ферментінің каталитикалық белсенді емес версиясына әкеледі.



Сурет 5. Клеткалардағы CRISPR/Cas13-жанамаланған антивирустық механизм

Бірінші этап: бейімделу. Екінші этап: пісіп жетілу. Үшінші этап: CRISPR/Cas13-жанамаланған интерференция. Cas13a:crRNA кешені туыстас протоспейсері бар РНҚ-нысананы таныған соң, онымен комплементарлы байланысып ыдыратады. Мақсатты реттілік протоспейсермен фланкриленген сайтпен (PFS) байланысып тұру қажет. PFS мақсатты протоспейсердің 3'-үшінде орналасады. Алайда Cas13a:crRNA байланысуы Cas13a ақуызының ретсіз РНҚазды белсенділігін активирлейді. Бұл комплементарлы негіздік жұпқа қарамай, кез келген циркуляцияланған РНҚ-ның ыдырауына әкеледі.

Cas13a 22-28 нт тұратын өзінің crRNA-сын PFS бар кезде (A, U, C нуклеотидтері) ыдыратады. Бірақ Cas9-ға қарағанда, Cas13a *in vitro* коллатеральды белсенділікке ие. Бұл crRNA-мен гомологиясы мен PFS барын есепке алмай, циркуляцияланған РНҚ-дың гидролизіне әкеледі.

Cas13a ферментінің спецификалық емес РНҚазды белсенділігі вирустың шабуылын тани алатын табиғи қорғаныштық механизмі ретінде вирустық инфекцияны тежейді. Осы қорғаныштық механизм клеткалардың бағдарламаланған апоптозын туындатады. Еркін циркуляцияланған РНҚ-дың спецификалық емес деградациясы *in vitro* жағдайында тек прокариоттық организмдерге тән, ал эукариоттық клеткаларда мұндай құбылыс байқалмаған [76,77]. Арнайы РНҚ-ны геномды өңдеу жағынан Cas13 ақуызының коллатеральды белсенділігі кемшілік болып көрінгенімен, Cas13 ферменттер туыстарын CRISPR/Cas негізіндегі диагностикалауды жасаудың мықты құралы ретінде пайдалануға мүмкіндік берді. Осылайша, SHERLOCK (Specific High-sensitive Enzymatic Reporter unLOCKing) диагностикалық құралының жасалуы Cas13-тың ауруларды детекциялаудың платформасы ретінде қолдану мүмкіндігін көрсетті [78,79]. Өзгертілген SHERLOCK платформасы глифосатқа тұрақты генді зерттеу мақсатында соя бұршақтарында нуклеин қышқылдарының детекциясында апробацияланған. Осылайша берілген құралды пайдаланудың маңызды потенциалы мен оның икемділігі айғақ болды [80]. Сәйкесінше Cas13 ортологтары негізіндегі берілген жүйені қысқа уақыт ішінде өсімдіктердің көптеген вирустары мен вироидтарын анықтауда қолдануға болатыны мүмкін. Осының барлығы ауылшаруашылық өнімдерінің сапасын бақылауда жаңа әдістерін жасау кезіндегі маңызды жетістіктерге әкеледі.

2018 жылы өсімдіктердің бір тізбекті РНҚ-геномды вирустардың бағдарламаланған ыдырауына бағытталған зерттеулер жүргізілді [81,82]. Күтілгендей, *N. Benthamiana* мен *A. thaliana* трансгенді өсімдіктерінде *Leptotrichia shahii* бөлініп алынған Cas13a пен вирустық РНҚ реттіліктеріне бағытталған crRNA *Turnip Mosaic Virus* (TuMV) вирусына қарсы тез, әрі эффективті

РНҚ-интерференцияны көрсетті. Бұл кезде *crRNҚ Tobacco Rattle Virus (TRV)* негізіндегі векторда *Pea early browning virus (PEBV)* промторымен басқарылды. Вирустық векторларды гидтік РНҚ және/немесе Cas-ақуыздарын тасымалдау үшін пайдалану, вирустық инфекция кезінде гидтік және/немесе Cas-ақуыздарының тез, әрі тиімді экспрессиясы арқасында CRISPR/Cas жүйесінің эффективтілігін айтарлықтай көтереді.

CRISPR/LshCas13a жүйесі арқылы темекі мен күріш трансгенді өсімдіктерінде TMV, *Rice stripe mosaic virus (RSMV)* пен *Southern rice black-streaked dwarf virus (SRBSDV)* вирустарына резистенттілік орнатылды [83]. *Potato virus Y (PVY)* вирусының P3, NIb- немесе CP ақуыздарының оқу рамкаларына бағытталған бұл жүйе инфекцияны тежеудің жоғары тиімділігін де көрсетті [84].

Leptotrichia wadei бактериясынан бөлініп алынған Cas13a ортологы адам клеткаларында РНҚ-ның бағытталған ноқдауына қолданылды [76]. РНҚ ноқдауының дәрежесі РНҚ-интерференцияға сәйкес болды, дегенмен арнайылығы жағынан CRISPR/Cas13 жүйесі РНҚ-дан айтарлықтай жоғары болды. Зерттеушілердің осы тобымен өсімдік клеткаларындағы CRISPR/LwaCas13-жанамаланған РНҚ ноқдауы да жүргізілді. Экспериментте күріштік протопласттарына (*Oryza sativa*) үш әр түрлі гендер бағытталған. Өсімдіктердің протопласттары LwaCas13a ақуызымен қатар, EPSPS, НСТ мен PDS гендеріне қарсы құрастырылған үш векторлар котрансфицирленген. Трансформациядан кейін ноқдаунның 50%-ы 48 сағаттан соң алынды. Бұл Cas13-тың өсімдіктердегі цитоплазмалық РНҚ пулын тез төмендетіп, редакцияланатын организмдердің кең спектры үшін жүйенің қолдану мүмкіндігін көрсетеді.

Зерттелінетін реттіліктің деректерін интеллектуалды анализдеу әдісін пайдалану арқылы РНҚ таргетингіне бағытталған HEPN домені бар тағы бір эффектор анықталды. Берілген ақуыз C2c6 (Cas13b) деп аталынды [85]. *Prevotella sp. P5-125* бактериясынан бөлініп алынған Cas13b екінші кластың VIB подтипіне жатқызылды. Эукариоттық клеткалардағы РНҚ-ның деградациясына бағытталған Cas13b-ға жүргізілген зерттеулер LwaCas13a -ға көрсетілген тұрақтылық доменіне (msfGFP) байланысты емес екенін көрсетті. Өсімдіктердегі CRISPR/Cas13b-жанамаланған манипуляциялар қазіргі кезде жоқ.

Ruminococcus flavefaciens бактериясынан бөлініп алынған Cas13d ақуызының кішкентай мөлшері болғанымен (930 а.к.), эндогенді транскрипттердің сплайсингін бақылай алады [86].

TuMV-GFP геномындағы GFP, CP немесе HC-Pro аймақтарына бағыттау арқылы TuMV инфекциясын тежеуге арналған зерттеулер кезінде, Cas13 басқа варианттарына қарағанда Cas13d үлкен артықшылықтарға ие екенін көрсетілді [87]. Сонымен қатар, Cas13d ақуызын бір уақытта екі РНҚ-вирустарына бағыттауға болатыны анықталды. Сәйкесінше, CRISPR/Cas13d жүйесін ауылшаруашылық дақылдарда табиғи және далалық жағдайларда болатын аралас вирустық шабуылдарға қарсы күресте потенциалды қолдануға болады.

Сонымен қатар, РНҚ-интерференцияның Cas13d-жанамаланған PAC-MAN (Prophylactic Antiviral CRISPR in huMAN cells) жүйесі адам өкпесінің клеткаларында коронавирусом SARS-CoV-2 коронавирусы мен грипптің А типінің вирусына қарсы күресте қолданылды [88].

Осының барлығы Cas13-тің РНҚ-ға бағытталған дәл, сенімді, әрі масштабты құралдары үшін үлкен потенциалға ие CRISPR/Cas әмбебап жүйесінің бір бөлігі ретінде қызмет ете алатынын көрсетті (Кесте 2).

Кесте 2

Өсімдіктердің вирустарына қарсы CRISPR/Cas13 жүйесін пайдалану

Cas13	микроорганизм	Өсімдік	Вирус	Мақсатты аймақ	Сілтемелер
Cas13d (CasRx)	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>N.benthamiana</i>	TuMV-GFP,	вирустық HC-Pro, CP, GFP	[89]

Cas13d (CasRx)	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>N.benthamiana</i>	PVX-GFP	PVX геномы	[89]
LshCas13a	<i>Leptotrichia shahii</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i> ,	TuMV V	Вирустық HC-Pro, CP, GFP	[81]
LwaCas13a	<i>Leptotrichia wadei</i>	plant	GFP	Вирустық геном	[76]
LshCas13a	<i>Leptotrichia shahii</i>	rice	SRBS DV	SRBSDV геномы	[83]
LshCas13a	<i>Leptotrichia shahii</i>	<i>Solanum tuberosum</i> L.	PVY	NIb, P3, CI, CP вирустық ақуыздары	[84]

Қысқартулар: TuMV- *Turnip mosaic virus*; GFP - green fluorescent protein; PVX - *Potato virus X*; SRBSDV - *Southern rice black-streaked dwarf virus*; PVY - *Potato virus Y*; HC-Pro - helper component proteinase; CP – capsid protein; NIb - RNA-dependent RNA polymerase; P3 - potyviral membrane protein; CI - protein forms the laminate cytoplasmic inclusion bodies.

Вирустық ақуыздармен әрекеттесін өсімдіктердің әр түрлі факторлары CRISPR/Cas жүйесімен мақсатты геномды өңдеуде анықталуы мүмкін. Берілген зерттеулер молекулярлы-динамикалық зерттеулерді қолдану арқылы сандық биологияда үлкен потенциалға ие. Демек, бұл тез дамидын вирустарға қарсы кең спектрындағы әдістерді әзірлеудің тұрақтылығын қамтамасыз етеді. Қазіргі таңда көптеген вирустарға қарсы өсімдіктердің тұрақтылығын орнату жөніндегі зерттеулерде өсімдіктердің потенциалды факторлардың төрт тобы болашағы зор нысаналар ретінде көрсетілген. Оларға келесі факторлар жатады: трансляцияға қатысатын рецессивті гендер - eEF1A мен eEF4; транскрипцияның негативті реттеушілері - rgs-CaM; ақуыздардың посттрансляциялық модификацияларында қатысатын ферменттер - NAT2 и NAT3, SK4-1, NsAK протеинкиназалары, убиквитин лигаза; геминивирустармен зақымдануды тежеу үшін фенилпропаноидтар метаболизмі мен екінші реттік клетка қабырғасының синтезін тежейтін - 4-кумарат, КоА-лигаза1, 4CL1, Bearskin2B, BRN2 [90].

Қорытынды

Гендік инженерия мен вирустарға тұрақты өсімдіктердің жаңа түрлерін жасау азық-түлік қауіпсіздігін жоғарылату мен тағамдық өнімдерді өнімдерді көтері мақсатында үлкен мүмкіндіктерді ашуда. РНҚ-интерференцияға қарағанда, Cas13 цитоплазмалық транскриптермен шектелмей, Cas13 ақуызының NLS сигналымен қосылуы арқылы кодталмайтын ядролық транскриптерге бағытталуы мүмкін. CRISPR/Cas13 жүйесі дара немесе көптік вирустық инфекцияларға қарсы өсімдіктердің иммунитетін жасау мақсатында революционды технология болып табылады. Бұл платформа гендер функциясының толық геномды зерттеулері, өсімдіктер транскриптомына қарсы РНҚ ноқдауны механизмі мен диагностикалық құралы ретінде қолданылуы мүмкін. Соңғы зерттеулер бойынша ДНҚ-вирустар Cas9 бар кезде дами алатындығы анықталғандықтан, өсімдіктерде CRISPR/Cas13 механизмі бар кезде РНҚ-вирустардың қашуы мен дамуына зерттеулер жүргізу қажет.

Қазіргі таңда CRISPR массивтерінде вирустық реттіліктерінің дағдылануы толығымен зерттелмеген. CRISPR/Cas жүйесінің құралдарымен толық жабдықталған эукариоттық клеткаларда спейсерлердің пайда болу мүмкіндігін зерттеу қызығушылық тудыруы мүмкін. Вирустардың кең спектрына тұрақтылықтың итеративті дамуын орнату мүмкіндігі сияқты вирустарға қарсы резистенттілікті жасауға потенциалды қолданысқа ие болуы мүмкін. Сонымен

қатар, эукариоттар геномына сайт-спецификалық ДНҚ интеграциялаудың потенциалы мен түсінігін қамтамасыз етіп, өсімдіктердің геномды инженериясының қосымша мүмкіндіктерін ашады.

Сонымен қатар, геномды редакциялаудың заманауи көзқарастары ауыл шаруашылығына маңызды дақылдарда вирустарға қарсы тұрақты, әрі кең резистенттілікке әкеледі, ал бұл нәтижесінде коммерцияландыруға жол ашады. Демек, CRISPR технологиясын қолдану вирустарға қарсы ауылшаруашылық дақылдарды жақсартудың эффективті және жалпы қолданылатын әдіспен қамтамасыз етеді. Вирустарға қарсы CRISPR/Cas-жанамаланған тұрақтылық бір уақытта бір немесе бірнеше вирусқа қарсы орнатылған геном реттіліктері бар өсімдіктің кез келген түрінде дамытылуы мүмкін. Бұл технология өсімдіктер мен патогендер арасындағы әрекеттестілікті зерттеп, вирустардың кең спектріне мықты резистенттілікті орнатудағы жаңа мүмкіндіктерді ашты.

Қаржыландыру. Осы жұмыс № AP09258746 «Өсімдіктерге вирусқа қарсы төзімділікті күшейту мақсатында вирустық ақуыз көмегімен CRISPR/Cas13 жүйесінің реттелуі» ҚР БҒМ жобасы шеңберінде жүргізілді.

Әдебиеттер тізімі

1. Oerke E.C., Dehne H.W. Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection // *Crop Protection*. -2004. - V.23, PP.275–285.
2. Khan M.A.U., Shahid A.A., Rao A.Q., et al. Molecular and Biochemical Characterization of Cotton Epicuticular Wax in Defense Against Cotton Leaf Curl Disease // *Iran J Biotechnol*. -2015. - V.13(4):3-9. doi:10.15171/ijb.1234.
3. Zaidi S.S.A., Tashkandi M., Mansoor S., Mahfouz M.M. Engineering Plant Immunity: Using CRISPR/Cas9 to Generate Virus Resistance. // *Front. Plant Sci*. -2016. V.7.
4. Sanford J.C., and Johnston S.A. 'The concept of parasite-derived resistance-deriving resistance genes from the parasite's own genome // *Journal of Theoretical Biology*. -1985. -V.113.2. PP. 395-405.
5. Wilson T.M. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. -1993.-V. 90. -PP. 3134–3141.
6. Um, B., Swaroopa Rani T., & Podile A.R. Warriors at the gate that never sleep: Non-host resistance in plants // *Journal of Plant Physiology*. -2011. -V.168(18). -PP. 2141–2152. doi:10.1016/j.jplph.2011.09.005.
7. Baruah A., Sivalingam P.N., Fatima U., & Senthil-Kumar M. Non-host resistance to plant viruses: what do we know? // *Physiological and Molecular Plant Pathology*. -2020. -V.101506. doi:10.1016/j.pmpp.2020.101506.
8. Jones J., Dangl J. The plant immune system // *Nature*. -2006. -V. 444. -PP. 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>.
9. Kørner C.J., Klauser D., Niehl A., et al. The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses // *Mol Plant Microbe Interact*. -2013. -V. 26(11). -PP. 1271-1280. doi:10.1094/MPMI-06-13-0179-R.
10. Verlaan M.G. et al. The tomato yellow leaf curl virus resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases // *PLoS Genet*. – 2013. – V. 9. – №. 3.
11. Carr J. P., Lewsey M.G., & Palukaitis P. Signaling in Induced Resistance. *Advances in Virus Research*. -2010. -PP. 57–121. doi:10.1016/s0065-3527(10)76003-6.
12. Bai S. et al. Structure-function analysis of barley NLR immune receptor MLA10 reveals its cell compartment specific activity in cell death and disease resistance // *PLoS Pathog*. – 2012. – V. 8. – №. 6.

13. Sekine K.T. et al. Enhanced resistance to Cucumber mosaic virus in the *Arabidopsis thaliana* ssi2 mutant is mediated via an SA-independent mechanism //Molecular plant-microbe interactions. – 2004. – V. 17. – №. 6. – PP. 623-632.
14. Carr J., Loebenstein G. Natural and Engineered Resistance to Plant Viruses: Part II. – Academic Press, 2010.
15. Kang W.H. et al. Helicase domain encoded by Cucumber mosaic virus RNA1 determines systemic infection of Cmr1 in pepper //PLoS One. – 2012. – V. 7. – №. 8.
16. Gawehns F., Cornelissen B.J.C., Takken F.L.W. The potential of effector-target genes in breeding for plant innate immunity //Microbial biotechnology. – 2013. – V. 6. – №. 3. – P. 223-229.
17. Kunik T. et al. Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus //Bio/technology. – 1994. – V. 12. – №. 5. – PP. 500-504.
18. Napoli C., Lemieux C., Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans //The plant cell. – 1990. – V. 2. – №. 4. – PP. 279-289.
19. Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections //Nature Reviews Genetics. – 2005. – V. 6. – №. 3. – PP. 206-220.
20. Ding S.W. RNA-based antiviral immunity //Nature Reviews Immunology. – 2010. – V. 10. – №. 9. – PP. 632-644.
21. Ipsaro J.J., Joshua-Tor L. From guide to target: molecular insights into eukaryotic RNA-interference machinery //Nature structural & molecular biology. – 2015. – V. 22. – №. 1. – P. 20.
22. Duan C.G., Wang C.H., Guo H.S. Application of RNA silencing to plant disease resistance //Silence. – 2012. – V. 3. – №. 1. – PP. 1-8.
23. Bau H.J. et al. Broad-spectrum resistance to different geographic strains of Papaya ringspot virus in coat protein gene transgenic papaya //Phytopathology. – 2003. – V. 93. – №. 1. – PP. 112-120.
24. Kundu J.K. et al. Role of the 25–26 nt siRNA in the resistance of transgenic *Prunus domestica* graft inoculated with plum pox virus //Virus Genes. – 2008. – V. 36. – №. 1. – PP. 215-220.
25. Sidorova T. et al. Agrobacterium-mediated transformation of Russian commercial Plum cv. “Startovaya” (*Prunus domestica* L.) with virus-derived hairpin RNA construct confers durable resistance to PPV infection in mature plants //Frontiers in plant science. – 2019. – V. 10. – P. 286. plants-08-00565-v2.pdf. (n.d.) .
26. Zhang Z.Y. et al. RNA interference-mediated resistance to maize dwarf mosaic virus //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2013. – V. 113. – №. 3. – PP. 571-578.
27. Zhang Z.Y. et al. Improvement of resistance to maize dwarf mosaic virus mediated by transgenic RNA interference //Journal of biotechnology. – 2011. – V. 153. – №. 3-4. – PP. 181-187.
28. Fuentes A. et al. Field trial and molecular characterization of RNAi-transgenic tomato plants that exhibit resistance to tomato yellow leaf curl geminivirus //Molecular Plant-Microbe Interactions. – 2016. – V. 29. – №. 3. – PP. 197-209.
29. Gogoi A. et al. Plant insects and mites uptake double-stranded RNA upon its exogenous application on tomato leaves //Planta. – 2017. – V. 246. – №. 6. – PP. 1233-1241.
30. Worrall E.A. et al. Exogenous application of RNAi-inducing double-stranded RNA inhibits aphid-mediated transmission of a plant virus //Frontiers in plant science. – 2019. – V. 10. – P. 265.
31. Das P.R., Sherif S.M. Application of Exogenous dsRNAs-induced RNAi in Agriculture: Challenges and Triumphs //Frontiers in Plant Science. – 2020. – V. 11.
32. Mitter N. et al. Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses //Nature plants. – 2017. – V. 3. – №. 2. – PP. 1-10.
33. Omarov R.T., Scholthof H.B. Biological chemistry of virus-encoded suppressors of RNA silencing: an overview //Antiviral Resistance in Plants. – 2012. – PP. 39-56.
34. Mann K.S. et al. Cytorhabdovirus P protein suppresses RISC-mediated cleavage and RNA silencing amplification in planta //Virology. – 2016. – V. 490. – PP. 27-40.

35. Iki T., Tschopp M.A., Voinnet O. Biochemical and genetic functional dissection of the P38 viral suppressor of RNA silencing //Rna. – 2017. – V. 23. – №. 5. – PP. 639-654.
36. Kenesi E. et al. A viral suppressor of RNA silencing inhibits ARGONAUTE 1 function by precluding target RNA binding to pre-assembled RISC //Nucleic acids research. – 2017. – V. 45. – №. 13. – PP. 7736-7750.
37. Omarov R. et al. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs //Journal of virology. – 2006. – V. 80. – №. 6. – P. 3000-3008.
38. Burgyán J. et al. The ORF1 products of tombusviruses play a crucial role in lethal necrosis of virus-infected plants //Journal of virology. – 2000. – V. 74. – №. 23. – PP. 10873-10881.
39. Shamekova M. et al. Tombusvirus-based vector systems to permit over-expression of genes or that serve as sensors of antiviral RNA silencing in plants //Virology. – 2014. – V. 452. – PP. 159-165.
40. Qiu W., Park J.W., Scholthof H.B. Tombusvirus P19-mediated suppression of virus-induced gene silencing is controlled by genetic and dosage features that influence pathogenicity //Molecular plant-microbe interactions. – 2002. – V. 15. – №. 3. – PP. 269-280.
41. Deveau H., Garneau J.E., Moineau S. CRISPR/Cas system and its role in phage-bacteria interactions //Annual review of microbiology. – 2010. – V. 64. – PP. 475-493.
42. Horvath P., Barrangou R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea //Science. – 2010. – V. 327. – №. 5962. – PP. 167-170.
43. Shmakov S. et al. Diversity and evolution of class 2 CRISPR–Cas systems //Nature Reviews Microbiology. – 2017. – V. 15. – №. 3. – PP. 169-182.
44. Koonin E.V., Makarova K.S., Zhang F. Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems //Current opinion in microbiology. – 2017. – V. 37. – PP. 67-78.
45. Burstein D. et al. New CRISPR–Cas systems from uncultivated microbes //Nature. – 2017. – V. 542. – №. 7640. – PP. 237-241.
46. Jiang W., Marraffini L. A. CRISPR-Cas: new tools for genetic manipulations from bacterial immunity systems //Annual review of microbiology. – 2015. – V. 69. – PP. 209-228.
47. Jinek M. et al. A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity //science. – 2012. – V. 337. – №. 6096. – PP. 816-821.
48. Baltes N.J. et al. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR–Cas prokaryotic immune system //Nature Plants. – 2015. – V. 1. – №. 10. – PP. 1-4.
49. Ali Z. et al. CRISPR/Cas9-mediated viral interference in plants //Genome biology. – 2015. – V. 16. – №. 1. – PP. 1-11.
50. Kis A. et al. Creating highly efficient resistance against wheat dwarf virus in barley by employing CRISPR/Cas9 system //Plant biotechnology journal. – 2019. – V. 17. – №. 6. – PP. 1004.
51. Doudna J.A., Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 //Science. – 2014. – V. 346. – №. 6213.
52. Ji X. et al. Establishing a CRISPR–Cas-like immune system conferring DNA virus resistance in plants //Nature Plants. – 2015. – V. 1. – №. 10. – PP. 1-4.
53. Baltes N.J. et al. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR–Cas prokaryotic immune system //Nature Plants. – 2015. – V. 1. – №. 10. – PP. 1-4.
54. Yin K. et al. Engineer complete resistance to Cotton Leaf Curl Multan virus by the CRISPR/Cas9 system in *Nicotiana benthamiana* //Phytopathology Research. – 2019. – V. 1. – №. 1. – PP. 1-9.
55. Ali Z. et al. CRISPR/Cas9-mediated immunity to geminiviruses: differential interference and evasion //Scientific reports. – 2016. – V. 6. – №. 1. – PP. 1-13.
56. Tashkandi M. et al. Engineering resistance against Tomato yellow leaf curl virus via the CRISPR/Cas9 system in tomato //Plant signaling & behavior. – 2018. – V. 13. – №. 10.

57. Mao Y. et al. Manipulating plant RNA-silencing pathways to improve the gene editing efficiency of CRISPR/Cas9 systems // *Genome biology*. – 2018. – V. 19. – №. 1. – PP. 1-15.
58. Zetsche B. et al. Multiplex gene editing by CRISPR–Cpf1 using a single crRNA array // *Nature biotechnology*. – 2017. – V. 35. – №1. – PP. 31-34.
59. Price A.A. et al. Cas9-mediated targeting of viral RNA in eukaryotic cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – V. 112. – №. 19. – PP. 6164-6169.
60. Zhang T. et al. Establishing RNA virus resistance in plants by harnessing CRISPR immune system // *Plant biotechnology journal*. – 2018. – V. 16. – №. 8. – PP. 1415-1423.
61. Mehta D. et al. Linking CRISPR-Cas9 interference in cassava to the evolution of editing-resistant geminiviruses // *Genome biology*. – 2019. – V. 20. – №. 1. – PP. 1-10.
62. Macovei A. et al. Novel alleles of rice eIF4G generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to Rice tungro spherical virus // *Plant biotechnology journal*. – 2018. – V. 16. – №. 11. – PP. 1918-1927.
63. Pyott D.E., Sheehan E., Molnar A. Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants // *Molecular plant pathology*. – 2016. – V. 17. – №. 8. – PP. 1276-1288.
64. Chandrasekaran J. et al. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology // *Molecular plant pathology*. – 2016. – V. 17. – №. 7. – PP. 1140-1153.
65. Zhang Q. et al. Potential high-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR/Cas9 in Arabidopsis and its prevention // *Plant molecular biology*. – 2018. – V. 96. – №. 4. – PP. 445-456.
66. Dixit A. et al. Perturb-Seq: dissecting molecular circuits with scalable single-cell RNA profiling of pooled genetic screens // *Cell*. – 2016. – V. 167. – №. 7. – PP. 1853-1866.
67. Tsai S.Q. et al. GUIDE-seq enables genome-wide profiling of off-target cleavage by CRISPR-Cas nucleases // *Nature biotechnology*. – 2015. – V. 33. – №. 2. – PP. 187-197.
68. Kuscu C. et al. Genome-wide analysis reveals characteristics of off-target sites bound by the Cas9 endonuclease // *Nature biotechnology*. – 2014. – V. 32. – №. 7. – PP. 677-683.
69. LeBlanc C. et al. Increased efficiency of targeted mutagenesis by CRISPR/Cas9 in plants using heat stress // *The Plant Journal*. – 2018. – V. 93. – №. 2. – PP. 377-386.
70. Malzahn A.A. et al. Application of CRISPR-Cas12a temperature sensitivity for improved genome editing in rice, maize, and Arabidopsis // *BMC biology*. – 2019. – V. 17. – №. 1. – PP. 1-14.
71. Schunder E. et al. First indication for a functional CRISPR/Cas system in *Francisella Tularensis* // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2013. – V. 303. – №. 2. – PP. 51-60.
72. Kneppers J. et al. Multiplex gene editing by CRISPR-Cpf1 through autonomous processing of a single crRNA array.
73. Shmakov S. et al. Diversity and evolution of class 2 CRISPR–Cas systems // *Nature Reviews Microbiology*. – 2017. – V. 15. – №. 3. – PP. 169-182.
74. Knott G.J. et al. Guide-bound structures of an RNA-targeting A-cleaving CRISPR–Cas13a enzyme // *Nature structural & molecular biology*. – 2017. – V. 24. – №. 10. – P. 825.
75. Abudayyeh O.O. et al. RNA targeting with CRISPR–Cas13 // *Nature*. – 2017. – V. 550. – №. 7675. – PP. 280-284.
76. Cox D.B.T. et al. RNA editing with CRISPR-Cas13 // *Science*. – 2017. – V. 358. – №. 6366. – PP. 1019-1027.
77. Gootenberg J.S. et al. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6 // *Science*. – 2018. – V. 360. – №. 6387. – PP. 439-444.
78. Gootenberg J.S. et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2 // *Science*. – 2017. – V. 356. – №. 6336. – PP. 438-442.
79. Abudayyeh O.O. et al. Nucleic acid detection of plant genes using CRISPR-Cas13 // *The CRISPR Journal*. – 2019. – V. 2. – №. 3. – PP. 165-171.

80. Aman R. et al. Engineering RNA virus interference via the CRISPR/Cas13 machinery in Arabidopsis //Viruses. – 2018. – V. 10. – №. 12. – P. 732.
81. Aman R. et al. Engineering RNA virus interference via the CRISPR/Cas13 machinery in Arabidopsis //Viruses. – 2018. – V. 10. – №. 12. – P. 732.
82. Zhang T. et al. Establishing CRISPR/Cas13a immune system conferring RNA virus resistance in both dicot and monocot plants //Plant biotechnology journal. – 2019. – V. 17. – №. 7. – PP. 1185-1187.
83. Zhan X. et al. Generation of virus-resistant potato plants by RNA genome targeting //Plant biotechnology journal. – 2019. – V. 17. – №. 9. – PP. 1814-1822.
84. Smargon A.A. et al. Cas13b is a type VI-B CRISPR-associated RNA-guided RNase differentially regulated by accessory proteins Csx27 and Csx28 //Molecular cell. – 2017. – V. 65. – №. 4. – PP. 618-630.
85. Konermann S. et al. Transcriptome engineering with RNA-targeting type VI-D CRISPR effectors //Cell. – 2018. – V. 173. – №. 3. – PP. 665-676.
86. Mahas A., Aman R., Mahfouz M. CRISPR-Cas13d mediates robust RNA virus interference in plants //Genome biology. – 2019. – V. 20. – №. 1. – P. 1-16.
87. Abbott T. R. et al. Development of CRISPR as an antiviral strategy to combat SARS-CoV-2 and influenza //Cell. – 2020. – V. 181. – №. 4. – PP. 865-876.
88. Mahas A., Aman R., Mahfouz M. CRISPR-Cas13d mediates robust RNA virus interference in plants //Genome biology. – 2019. – V. 20. – №. 1. – PP. 1-16.
89. Cao Y. et al. Control of plant viruses by CRISPR/Cas system-mediated adaptive immunity //Frontiers in Microbiology. – 2020. – V. 11.

Н. Иксат, З. Стамғалиева, А. Мадиров, С. Жангазин, Р. Омаров

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

Современные методы CRISPR/Cas геномного редактирования при модуляции в растениях, направленной на вирусные заболевания

Аннотация. В связи с быстрым ростом мирового населения продовольственная безопасность стала серьезной проблемой: более 800 миллионов человек страдают от голода, а миллионы подвергаются риску. Мировое сельское хозяйство находится под постоянным воздействием различных биотических и абиотических факторов, ограничивающих урожайность сельскохозяйственных культур. Патогены, включая грибы, бактерии, вирусы, насекомых и паразитические растения, представляют собой серьезные биотические стрессы, которые могут вызвать серьезные потери урожая. Молекулярные взаимодействия между вирусом и растением являются одной из основных моделей в понимании защитных антивирусных систем и интерференции растений. В этой статье рассмотрены основные классы генов устойчивости, РНК-интерференция и РНК-опосредованная адаптивная иммунная система бактерий и архей - CRISPR/Cas. Последние исследования указывают на то, что CRISPR/Cas система может играть значительную роль в придании антивирусной устойчивости растениям.

Обзор направлен на рассмотрение последних достижений в биотехнологии растений, которые имеют потенциальное практическое применение в регуляции взаимодействия вирус-растение.

Ключевые слова: иммунитет растений, устойчивость, вирусы растений, CRISPR/Cas9, CRISPR/Cas13.

N. Iksat, Z. Stangaliyeva, A. Madirov, S. Zhangazin, R. Omarov
Eurasian national university L.N. Gumilyov, Nur-Sultan, Kazakhstan

Modern methods of CRISPR/Cas genomic editing for modulation in plants aimed at viral diseases

Abstract. With the rapid growth of the world's population, food security has become a major concern, with more than 800 million people suffering from hunger and millions more at risk. World agriculture is constantly under an influence of various biotic and abiotic factors that limit productivity of agricultural crops. Pathogens, including fungi, bacteria, viruses, insects and parasitic plants, are severe biotic stresses that can cause severe crop losses. Molecular interactions between a virus and a plant are one of the main models in the understanding of antiviral defense systems and plant interference. The article discusses main classes of resistance genes, RNA interference and RNA-mediated adaptive immune system of bacteria and archaea - CRISPR/Cas. Recent studies indicate that the CRISPR/Cas system may play a significant role in conferring antiviral resistance to plants.

The article aims to review recent advances in plant biotechnology that have potential practical applications in regulating virus-plant interactions.

Keywords: plant immunity, resistance, plant viruses, CRISPR/Cas9, CRISPR/Cas13.

References

1. Oerke E.C., and Dehne H.W. Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop protection* 23.4, 275-285 (2004).
2. Khan Muhammad Azmat Ullah, et al. Molecular and biochemical characterization of cotton epicuticular wax in defense against cotton leaf curl disease. *Iranian Journal of Biotechnology* 13.4, 3 (2015).
3. Zaidi Syed Shan-e-Ali, et al. Engineering plant immunity: using CRISPR/Cas9 to generate virus resistance. *Frontiers in plant science* 7, 1673 (2016).
4. Sanford J.C., and Johnston S.A. The concept of parasite-derived resistance-deriving resistance genes from the parasite's own genome. *Journal of Theoretical Biology* 113.2, 395-405 (1985).
5. Wilson T. Michael. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90.8, 3134-3141 (1993).
6. Uma Battepati T. Swaroopa Rani, and Appa Rao Podile. Warriors at the gate that never sleep: non-host resistance in plants. *Journal of plant physiology* 168.18, 2141-2152 (2011).
7. Baruah Aiswarya, et al. Non-host resistance to plant viruses: What do we know? *Physiological and Molecular Plant Pathology* 111, 101506 (2020).
8. Jones J.D. Dangl J L. *The plant immune system* 444.7117, 323-329.
9. Kørner Camilla Julie, et al. The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses. *Molecular plant-microbe interactions* 26.11, 1271-1280 (2013).
10. Verlaan Maarten G., et al. The tomato yellow leaf curl virus resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases. *PLoS genetics* 9.3, e1003399, (2013).
11. Carr John P., Mathew G. Lewsey, and Peter Palukaitis. Signaling in induced resistance. *Advances in virus research* 76, 57-121 (2010).
12. Bai Shiwei, et al. Structure-function analysis of barley NLR immune receptor MLA10 reveals its cell compartment specific activity in cell death and disease resistance. *PLoS pathogens* 8.6, e1002752 (2012).

13. Sekine Ken-Taro, et al. Enhanced resistance to Cucumber mosaic virus in the *Arabidopsis thaliana* ssi2 mutant is mediated via an SA-independent mechanism. *Molecular plant-microbe interactions* 17.6, 623-632 (2004).
14. Carr John, and Gad Loebenstein. Natural and Engineered Resistance to Plant Viruses: Part II. *Academic Press* (2010).
15. Kang Won-Hee, et al. Helicase domain encoded by Cucumber mosaic virus RNA1 determines systemic infection of Cmr1 in pepper. *PLoS*. e43136 (2012).
16. Gawehns Fleur, Ben J.C. Cornelissen, and Frank L.W. Takken. The potential of effector-target genes in breeding for plant innate immunity. *Microbial biotechnology* 6.3, 223-229 (2013).
17. Kunik Talya, et al. Transgenic tomato plants expressing the tomato yellow leaf curl virus capsid protein are resistant to the virus. *Bio/technology* 12.5, 500-504 (1994).
18. Napoli Carolyn, Christine Lemieux, and Richard Jorgensen. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *The plant cell* 2.4, 279-289, (1990).
19. Voinnet Olivier. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nature Reviews Genetics* 6.3, 206-220 (2005).
20. Ding Shou-Wei. RNA-based antiviral immunity. *Nature Reviews Immunology* 10.9, 632-644, (2010).
21. Ipsaro Jonathan J., and Leemor Joshua-Tor. From guide to target: molecular insights into eukaryotic RNA-interference machinery. *Nature structural & molecular biology* 22.1, 20-28 (2015).
22. Duan Cheng-Guo, Chun-Han Wang, and Hui-Shan Guo. Application of RNA silencing to plant disease resistance. *Silence* 3.1, 1-8 (2012).
23. Bau Huey-Jiunn, et al. Broad-spectrum resistance to different geographic strains of Papaya ringspot virus in coat protein gene transgenic papaya. *Phytopathology* 93.1, 112-120 (2003).
24. Kundu Jiban Kumar, et al. Role of the 25–26 nt siRNA in the resistance of transgenic *Prunus domestica* graft inoculated with plum pox virus. *Virus genes* 36.1, 215-220 (2008).
25. Sidorova Tatiana, et al. Agrobacterium-mediated transformation of Russian commercial plum cv. "Startovaya" (*Prunus domestica* L.) with virus-derived hairpin RNA construct confers durable resistance to PPV infection in mature plants. *Frontiers in plant science* 10, 286 (2019). [plants-08-00565-v2.pdf](#). (n.d.) .
26. Lenka Biswajit, Satya Narayan Satapathy, and Manoranjan Senapati. Engineering Plant Virus Resistance: Gene Silencing to Genome Editing. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 9.10, 3086-3096 (2020).
27. Zhang Zhi-Yong, et al. Improvement of resistance to maize dwarf mosaic virus mediated by transgenic RNA interference. *Journal of biotechnology* 153.3-4, 181-187 (2011).
28. Fuentes Alejandro, et al. Field trial and molecular characterization of RNAi-transgenic tomato plants that exhibit resistance to tomato yellow leaf curl geminivirus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 29.3, 197-209 (2016).
29. Gogoi Anupam, et al. Plant insects and mites uptake double-stranded RNA upon its exogenous application on tomato leaves. *Planta* 246.6, 1233-1241 (2017).
30. Worrall Elizabeth A., et al. Exogenous application of RNAi-inducing double-stranded RNA inhibits aphid-mediated transmission of a plant virus. *Frontiers in plant science* 10, 265 (2019).
31. Das Protiva Rani, and Sherif M. Sherif. Application of exogenous dsRNAs-induced RNAi in agriculture: Challenges and triumphs. *Frontiers in Plant Science* 11, 946 (2020).
32. Mitter Neena, et al. Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses. *Nature plants* 3.2, 1-10 (2017).
33. Omarov Rustem T., and Herman B. Scholthof. Biological chemistry of virus-encoded suppressors of RNA silencing: an overview. *Antiviral Resistance in Plants*. 39-56 (2012).
34. Mann Krin S., et al. Cytorhabdovirus P protein suppresses RISC-mediated cleavage and RNA silencing amplification in planta. *Virology* 490, 27-40 (2016).

35. Iki Taichiro, Marie-Aude Tschopp, and Olivier Voinnet. Biochemical and genetic functional dissection of the P38 viral suppressor of RNA silencing. *Rna* 23.5, 639-654 (2017).
36. Kenesi Erzsébet, et al. A viral suppressor of RNA silencing inhibits ARGONAUTE 1 function by precluding target RNA binding to pre-assembled RISC. *Nucleic acids research* 45.13, 7736-7750 (2017).
37. Omarov Rustem, et al. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs. *Journal of virology* 80.6, 3000-3008 (2006).
38. Burgyán József, et al. The ORF1 products of tombusviruses play a crucial role in lethal necrosis of virus-infected plants. *Journal of virology* 74.23, 10873-10881 (2000).
39. Shamekova Malika, et al. Tombusvirus-based vector systems to permit over-expression of genes or that serve as sensors of antiviral RNA silencing in plants. *Virology* 452, 159-165 (2014).
40. Qiu Wenping, Jong-Won Park, and Herman B. Scholthof. Tombusvirus P19-mediated suppression of virus-induced gene silencing is controlled by genetic and dosage features that influence pathogenicity. *Molecular plant-microbe interactions* 15.3, 269-280 (2002).
41. Deveau Hélene, Josiane E. Garneau, and Sylvain Moineau. CRISPR/Cas system and its role in phage-bacteria interactions. *Annual review of microbiology* 64, 475-493 (2010).
42. Horvath Philippe, and Rodolphe Barrangou. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science* 327.5962, 167-170 (2010).
43. Shmakov Sergey, et al. Diversity and evolution of class 2 CRISPR–Cas systems. *Nature reviews microbiology* 15.3, 169-182 (2017).
44. Koonin Eugene V., Makarova Kira S., and Feng Zhang. Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems. *Current opinion in microbiology* 37, 67-78 (2017).
45. Burstein David, et al. New CRISPR–Cas systems from uncultivated microbes. *Nature* 542.7640, 237-241 (2017).
46. Jiang Wenyan, and Luciano A. Marraffini. CRISPR-Cas: new tools for genetic manipulations from bacterial immunity systems. *Annual review of microbiology* 69, 209-228 (2015).
47. Jinek Martin, et al. A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *science* 337.6096, 816-821 (2012).
48. Baltes Nicholas J., et al. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR–Cas prokaryotic immune system. *Nature Plants* 1.10, 1-4 (2015).
49. Ali Zahir, et al. CRISPR/Cas9-mediated viral interference in plants. *Genome biology* 16.1, 1-11(2015).
50. Kis, András, et al. Creating highly efficient resistance against wheat dwarf virus in barley by employing CRISPR/Cas9 system. *Plant biotechnology journal* 17.6, 1004 (2019).
51. Doudna Jennifer A., and Emmanuelle Charpentier. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 346.6213 (2014).
52. Ji Xiang, et al. Establishing a CRISPR–Cas-like immune system conferring DNA virus resistance in plants. *Nature Plants* 1.10, 1-4 (2015).
53. Baltes Nicholas J., et al. Conferring resistance to geminiviruses with the CRISPR–Cas prokaryotic immune system. *Nature Plants* 1.10, 1-4(2015).
54. Yin Kangquan, et al. Engineer complete resistance to Cotton Leaf Curl Multan virus by the CRISPR/Cas9 system in *Nicotiana benthamiana*. *Phytopathology Research* 1.1, 1-9 (2019).
55. Ali Zahir, et al. CRISPR/Cas9-mediated immunity to geminiviruses: differential interference and evasion. *Scientific reports* 6.1, 1-13 (2016).
56. Tashkandi Manal, et al. Engineering resistance against Tomato yellow leaf curl virus via the CRISPR/Cas9 system in tomato. *Plant signaling & behavior* 13.10, e1525996 (2018).
57. Mao Yanfei, et al. Manipulating plant RNA-silencing pathways to improve the gene editing efficiency of CRISPR/Cas9 systems. *Genome biology* 19.1, 1-15(2018).

58. Zetsche B. et al. Multiplex gene editing by CRISPR–Cpf1 using a single crRNA array. *Nature biotechnology*. 35.1, 31-34 (2017).
59. Price Aryn A., et al. Cas9-mediated targeting of viral RNA in eukaryotic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.19, 6164-6169(2015).
60. Zhang Tong, et al. Establishing RNA virus resistance in plants by harnessing CRISPR immune system. *Plant biotechnology journal* 16.8, 1415-1423 (2018).
61. Mehta Devang, et al. Linking CRISPR-Cas9 interference in cassava to the evolution of editing-resistant geminiviruses. *Genome biology* 20.1, 1-10 (2019).
62. Macovei Anca, et al. Novel alleles of rice eIF4G generated by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis confer resistance to Rice tungro spherical virus. *Plant biotechnology journal* 16.11, 1918-1927 (2018).
63. Pyott Douglas E., Emma Sheehan, and Attila Molnar. Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants. *Molecular plant pathology* 17.8, 1276-1288 (2016).
64. Chandrasekaran Jeyabharathy, et al. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Molecular plant pathology* 17.7, 1140-1153 (2016).
65. Zhang Qiang, et al. Potential high-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR/Cas9 in Arabidopsis and its prevention. *Plant molecular biology* 96.4, 445-456 (2018).
66. Dixit Atray, et al. Perturb-Seq: dissecting molecular circuits with scalable single-cell RNA profiling of pooled genetic screens. *Cell* 167.7, 1853-1866 (2016).
67. Tsai Shengdar Q., et al. GUIDE-seq enables genome-wide profiling of off-target cleavage by CRISPR-Cas nucleases. *Nature biotechnology* 33.2, 187-197 (2015).
68. Kuscu Cem, et al. Genome-wide analysis reveals characteristics of off-target sites bound by the Cas9 endonuclease. *Nature biotechnology* 32.7, 677-683 (2014).
69. LeBlanc Chantal, et al. Increased efficiency of targeted mutagenesis by CRISPR/Cas9 in plants using heat stress. *The Plant Journal* 93.2, 377-386 (2018).
70. Malzahn Aimee A., et al. Application of CRISPR-Cas12a temperature sensitivity for improved genome editing in rice, maize, and Arabidopsis. *BMC biology* 17.1, 1-14 (2019).
71. Schunder Eva, et al. First indication for a functional CRISPR/Cas system in Francisella tularensis. *International Journal of Medical Microbiology* 303.2, 51-60 (2013).
72. Schunder Eva, et al. First indication for a functional CRISPR/Cas system in Francisella tularensis. *International Journal of Medical Microbiology* 303.2, 51-60 (2013).
73. Shmakov Sergey, et al. Diversity and evolution of class 2 CRISPR–Cas systems. *Nature reviews microbiology* 15.3, 169-182 (2017).
74. Knott Gavin J., et al. Guide-bound structures of an RNA-targeting A-cleaving CRISPR–Cas13a enzyme. *Nature structural & molecular biology* 24.10, 825-833 (2017).
75. Abudayyeh, Omar O., et al. RNA targeting with CRISPR–Cas13. *Nature* 550.7675, 280-284 (2017).
76. Cox David B.T., et al. RNA editing with CRISPR-Cas13. *Science* 358.6366, 1019-1027 (2017).
77. Gootenberg Jonathan S., et al. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science* 360.6387, 439-444 (2018).
78. Gootenberg Jonathan S., et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science* 356.6336, 438-442 (2017).
79. Abudayyeh Omar O., et al. Nucleic acid detection of plant genes using CRISPR-Cas13. *The CRISPR journal* 2.3, 165-171 (2019).
80. Aman Rashid, et al. Engineering RNA virus interference via the CRISPR/Cas13 machinery in Arabidopsis. *Viruses* 10.12, 732 (2018).
81. Aman Rashid, et al. Engineering RNA virus interference via the CRISPR/Cas13 machinery in Arabidopsis. *Viruses* 10.12, 732 (2018).

82. Zhang Tong, et al. Establishing CRISPR/Cas13a immune system conferring RNA virus resistance in both dicot and monocot plants. *Plant biotechnology journal* 17.7, 1185 (2019).
83. Zhan Xiaohui, et al. Generation of virus-resistant potato plants by RNA genome targeting. *Plant biotechnology journal* 17.9, 1814-1822 (2019).
84. Smargon Aaron A., et al. Cas13b is a type VI-B CRISPR-associated RNA-guided RNase differentially regulated by accessory proteins Csx27 and Csx28. *Molecular cell* 65.4, 618-630 (2017).
85. Konermann Silvana, et al. Transcriptome engineering with RNA-targeting type VI-D CRISPR effectors. *Cell* 173.3, 665-676 (2018).
86. Mahas Ahmed, Rashid Aman, and Magdy Mahfouz. CRISPR-Cas13d mediates robust RNA virus interference in plants. *Genome biology* 20.1, 1-16 (2019).
87. Abbott Timothy R., et al. Development of CRISPR as an antiviral strategy to combat SARS-CoV-2 and influenza. *Cell* 181.4, 865-876 (2020).
88. Mahas Ahmed, Rashid Aman, and Magdy Mahfouz. CRISPR-Cas13d mediates robust RNA virus interference in plants. *Genome biology* 20.1, 1-16 (2019).
89. Cao Yongsun, et al. Control of plant viruses by CRISPR/Cas system mediated adaptive immunity. *Frontiers in Microbiology* 11, 2613 (2020).

Авторлар туралы мәлімет:

Иқсат Н. - PhD студент, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Стамғалиева З. - техника ғылымдарының магистрі, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Мадиров А. - Биотехнология мамандығы бойынша бакалавр, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Жангазин С. - Биология мамандығы бойынша PhD, доцент м.а., Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Омаров Р. - PhD, профессор, биотехнология және микробиология кафедрасының меңгерушісі, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Iksat N. - Ph.D. student in Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Stamgaliyeva Z. - Master in technical science, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Madirov A. - BSc in Biotechnology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Zhangazin S. - Ph.D. in Biology, Associate Professor, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Omarov R. - Ph.D., Professor, Head of Department Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

*The Albert Katz International School for Desert Studies, The Jacob Blaustein Institutes for Desert Research,
Ben-Gurion University of the Negev, Sede Boqer Campus, Beersheba, Israel
E-mail: zhadyrassyn.nurbekova@gmail.com*

Dedicated to the greatest scientist and my respected mentor Omarov Rustem

Toxicity of reactive carbonyl compounds to plants

Abstract. *In plants, environmental stresses result in oxidative stress, lipid peroxidation and the generation of reactive carbonyl aldehydes. Reactive carbonyl aldehydes are downstream products of reactive oxygen species which can be described as critical cell-damaging agents in plants under various environmental stresses. In this paper toxicity of reactive carbonyl aldehydes and its generation under stress conditions are discussed. Moreover, involvement of reactive carbonyl aldehydes in stress-induced damage to plants is demonstrated. Toxic effect of reactive aldehydes such as acrolein, malondialdehyde and crotonaldehyde in plants under different stresses and their high electrophilicity is also discussed. Increases in malondialdehyde was demonstrated in UV-C stressed plants as the result of carbonyl modified proteins. A malondialdehyde is one of the widely shown aldehyde, which can be demonstrated as an indicator of reactive oxygen species. Malondialdehyde isomerized to 3-hydroxyacrolein whereas it can be described as a dialdehyde. The article considers detrimental actions of reactive carbonyl aldehydes and their chemical properties as well as detoxification of reactive carbonyl aldehydes by multiple enzymes such as aldehyde dehydrogenase, aldehyde reductase, aldo-keto reductase and 2-alkenal reductase.*

Keywords: *reactive carbonyl aldehydes, reactive oxygen species, lipid hydroperoxide, toxicity, malondialdehyde.*

DOI: 10.32523/2616-7034-2021-136-3-86-92

Formation of reactive carbonyl aldehydes under environmental stresses

Plants are constantly exposed to environmental stresses, such as extreme temperatures, drought and salinity and lead to a rise in the level of reactive oxygen species (ROS) in cells (Asada, 2006; Mano et al., 2019). Further, ROS oxidizes lipids to form lipid peroxides (LOOHs) and LOOHs undergo oxidative degradation to generate reactive carbonyl aldehydes (RCA) (Blée, 1998; Mano, 2012) (Fig.1). RCA are downstream products of ROS, which can be generated in plants under normal physiological conditions, and their level increases under stress conditions. The accumulation of carbonyls in excess can be very toxic, because they may mediate the oxidative injury of plants. (Biswas and Mano, 2016; Srivastava et al., 2017). The involvement of RCA in such stress-induced damage to plants was previously reported by different studies. Increased level of α,β -unsaturated aldehydes which are considered to be strong electrophiles (Esterbauer et al., 1991) was observed in tobacco leaves under photo inhibitory illumination (Mano et al., 2010). Additionally, the toxic effect of aldehydes was observed in tobacco roots exposed to aluminum treatment (Yin et al., 2010). Increases in malondialdehyde (MDA), acrolein and crotonaldehyde were shown in heat and salt stressed plants as the result of carbonyl modified proteins (Yamauchi et al., 2008; Mano et al., 2014). Moreover, the involvement of carbonyls in plant cell death induced by hydrogen peroxide and salt stress was also reported (Biswas and Mano, 2015). Recently, it was revealed that an enhanced level of aldehydes can induce silique senescence in aldehyde oxidase 4 mutant in *Arabidopsis thaliana* under different stresses (Srivastava et al., 2017).

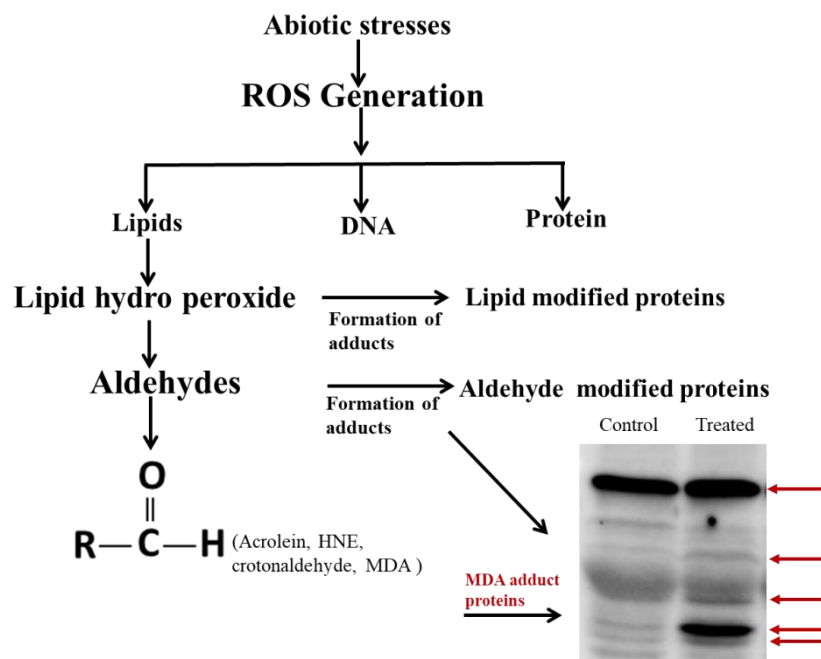


Figure 1. Schematic pathway generation of toxic aldehydes under abiotic stresses. Red arrows indicate increases in the MDA modification level of SDS-PAGE fractionated *Arabidopsis* leaf proteins 3 days after UV-C stress application as compared to control (unstressed) proteins

Toxicity of RCA

There is an increasing body of evidence for the toxicity of aldehydes in plants (Mano et al., 2002; Mano, 2012; Biswas and Mano, 2015; Srivastava et al., 2017). Among lipid peroxide derived carbonyls, α , β -unsaturated aldehydes such as hydroxy-2-nonenal HNE, acrolein and crotonaldehyde were identified as the most reactive species. Due to this reactivity, they may exert cytotoxicity at low levels while less reactive aldehydes such as formaldehyde and MDA can be toxic only at much higher levels (Esterbauer et al., 1991). In plants HNE can inhibit mitochondrial enzymes such as decarboxylating dehydrogenases (Millar and Leaver, 2000) and alternative oxidases, which are directly involved in the inhibition of the mitochondrial electron transport (Winger et al., 2005). Moreover, HNE, acrolein and *trans*-2-hexanal can inhibit photosynthesis in the chloroplasts and acrolein can affect the Calvin cycle enzymes. The involvement of crotonaldehyde in the inactivation of CO₂-photoreduction was observed as well (Mano et al., 2009). Cell injury and retardation in growth of roots was also observed as a result of accumulated aldehydes such as HNE, acrolein, MDA and formaldehyde under aluminum treatment (Yin et al., 2010). Increased level of MDA and its damaging effect was observed under different stresses such as chilling or UV-B (Hodgson and Raison, 1991; Panagopoulos et al., 1992). Acrolein, which is one of the most toxic products of LOOH, can induce plant cell death by the activation of Caspase-3-Like Proteases (Biswas and Mano, 2016). Additionally, it was shown that methyl viologen treatment can cause severe damage to plants due to enhanced acrolein and crotonaldehyde accumulation (Yamauchi et al., 2012). Modification of proteins with RCA such as acrolein, crotonaldehyde, HNE, HHE and MDA can cause irreversible damage to plants (Mano et al., 2014). The toxic effect of exogenously applied aldehydes such as acrolein, HNE, benzaldehyde and hexanal was demonstrated to cause early senescence in siliques (Srivastava et al., 2017). The involvement of RCA in lateral root formation and the toxic effect of aldehydes such as 3-Z-hexanal, n-hexanal was also shown to result in the accumulation of anthocyanins, bleaching in leaves, and retardation of root growth (Biswas et al., 2019). Thus, it is well established that detoxification of carbonyl aldehydes is essential for maintaining plants viability.

Detoxification of RCA by enzymes

Detoxification of aldehydes was attributed to enzymes such as aldehyde dehydrogenase (ALDH; EC 1.2.1.3) that oxidizes aldehydes to the corresponding carboxylic acids using NAD or NAD(P)⁺ as coenzymes (Sunkar et al., 2003; Stiti et al., 2011; Widhalm and Dudareva, 2015), aldo-keto reductase (AKR; EC 1.1.1.2) and aldehyde reductase (ALR; EC 1.1.1.2) that reduces the carbonyl groups to alcohols by using NADPH as an electron donor (Oberschall et al., 2000; Yamauchi et al., 2011), 2-alkenal reductases (AER, EC 1.3.1.74) that reduce double bond of carbonyls to saturated aldehydes (Mano et al., 2002), glutathione transferase tau isozymes (GST) that also contribute to detoxification of RCS in plants (Mano et al., 2019a) (Figure 2). Recently, it was shown that aldehyde oxidase 4, mainly expressed in silique, but not in leaves, can catalyze the detoxification of aldehydes resulting in the delay of silique senescence in *Arabidopsis* (Srivastava et al., 2017).

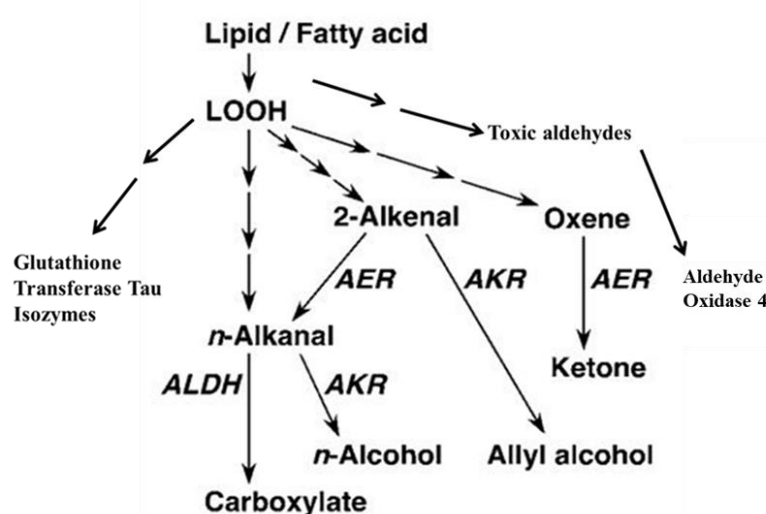


Figure 2. Pathway of detoxification of lipid peroxide-derived reactive carbonyl aldehydes in plants. Enzyme abbreviations are as follows: AER, Alkenal reductase; AKR, aldo-keto reductase; and ALDH, aldehyde dehydrogenase, Modified from Mano et al.

References

1. Asada, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol.* -2006. -141. -P. 391-396.
2. Biswas, M.S., Fukaki, H., Mori, I.C., Nakahara, K., and Mano, J. Reactive oxygen species and reactive carbonyl species constitute a feed-forward loop in auxin signaling for lateral root formation. *Plant J.* -2019. -100. -P. 536-548.
3. Biswas, M.S. and Mano, J. Lipid Peroxide-Derived Short-Chain Carbonyls Mediate Hydrogen Peroxide-Induced and Salt-Induced Programmed Cell Death in Plants. *Plant Physiol.* -2015. -168. -P. 885-898.
4. Biswas, M.S. and Mano, J. Reactive carbonyl species activate caspase-3-like protease to initiate programmed cell death in plants. *Plant Cell Physiol.* -2016. -57. -P. 1432-1442.
5. Blée, E. Phytooxylipins and plant defense reactions. *Prog. Lipid Res.* -1998. -37. -P. 33-72.
6. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* -1991. -11. -P. 81-128.
7. Hodgson, R.A.J. and Raison, J.K. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in relation to photoinhibition induced by chilling in moderate light. *Planta.* -1991. -185. -P. 215-219.

8. Mano, J. Reactive carbonyl species: Their production from lipid peroxides, action in environmental stress, and the detoxification mechanism. *Plant Physiol. Biochem.* -2012. -59. -P. 90-97.
9. Mano, J., Biswas, M.S., and Sugimoto, K. Reactive carbonyl species: A missing link in ROS signaling. *Plants.* -2019A. -8. -P. 1-23.
10. Mano, J., Kanameda, S., Kuramitsu, R., Matsuura, N., and Yamauchi, Y. Detoxification of reactive carbonyl species by glutathione transferase tau isozymes. *Front. Plant Sci.* -2019b. -10. -P.1-7.
11. Mano, J., Miyatake, F., Hiraoka, E., and Tamoi, M. Evaluation of the toxicity of stress-related aldehydes to photosynthesis in chloroplasts. *Planta.* -2009. -230. -P. 639-648.
12. Mano, J., Nagata, M., Okamura, S., Shiraya, T., and Mitsui, T. Identification of oxidatively modified proteins in salt-stressed arabidopsis: A carbonyl-targeted proteomics approach. *Plant Cell Physiol.* -2014. -55. -P. 1233-1244.
13. Mano, J., Tokushige, K., Mizoguchi, H., Fujii, H., and Khorobrykh, S. Accumulation of lipid peroxide-derived, toxic α,β -unsaturated aldehydes (E)-2-pentenal, acrolein and (E)-2-hexenal in leaves under photoinhibitory illumination. *Plant Biotechnol.* -2010. -27. -P. 193-197.
14. Mano, J., Torii, Y., Hayashi Sichiro, Takimoto, K., Matsui, K., Nakamura, K., Inzé, D., Babiychuk, E., Kushnir, S., and Asada, K. The NADPH:Quinone oxidoreductase P1- ζ -crystallin in Arabidopsis catalyzes the α,β -hydrogenation of 2-alkenals: Detoxication of the lipid peroxide-derived reactive aldehydes. *Plant Cell Physiol.* -2002. -43. -P. 1445-1455.
15. Millar, A.H. and Leaver, C.J. The cytotoxic lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, specifically inhibits decarboxylating dehydrogenases in the matrix of plant mitochondria. *FEBS Lett.* -2000. -481. -P. 117-121.
16. Oberschall, A., Deák, M., Török, K., Sass, L., Vass, I., Kovács, I., Fehér, A., Dudits, D., and Horváth, G. V. A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses. *Plant J.* -2000. -24. -P. 437-446.
17. Panagopoulos, I., Bornman, J.F., and Björn, L.O. Response of sugar beet plants to ultraviolet-B (280–320 nm) radiation and Cercospora leaf spot disease. *Physiol. Plant.* -1992. -84. -P. 140-145.
18. Srivastava, S., Brychkova, G., Yarmolinsky, D., Soltabayeva, A., Samani, T., and Sagi, M. Aldehyde oxidase 4 plays a critical role in delaying silique senescence by catalyzing aldehyde detoxification. *Plant Physiol.* -2017. -173. -P. 1977-1997.
19. Stiti, N., Adewale, I.O., Petersen, J., Bartels, D., and Kirch, H.H. Engineering the nucleotide coenzyme specificity and sulfhydryl redox sensitivity of two stress-responsive aldehyde dehydrogenase isoenzymes of Arabidopsis thaliana. *Biochem. J.* -2011. -434. -P. 459-471.
20. Sunkar, R., Bartels, D., and Kirch, H.H. Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from Arabidopsis thaliana in transgenic plants improves stress tolerance. *Plant J.* -2003. -35. -P. 452-464.
21. Widhalm, J.R. and Dudareva, N. A familiar ring to it: Biosynthesis of plant benzoic acids. *Mol. Plant.* -2015. -8. -P. 83-97.
22. Winger, A.M., Millar, A.H., and Day, D.A. Sensitivity of plant mitochondrial terminal oxidases to the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal (HNE). *Biochem. J.* -2005. -387. -P. 865-870.
23. Yamauchi, Y., Furutera, A., Seki, K., Toyoda, Y., Tanaka, K., and Sugimoto, Y. Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. *Plant Physiol. Biochem.* -2008. -46. -P. 786-793.
24. Yamauchi, Y., Hasegawa, A., Mizutani, M., and Sugimoto, Y. Chloroplastic NADPH-dependent alkenal/one oxidoreductase contributes to the detoxification of reactive carbonyls produced under oxidative stress. *FEBS Lett.* -2012. -586. -P. 1208-1213.
25. Yamauchi, Y., Hasegawa, A., Taninaka, A., Mizutani, M., and Sugimoto, Y. NADPH-dependent reductases involved in the detoxification of reactive carbonyls in plants. *J. Biol. Chem.* -2011. -286. -P. 6999-7009.

26. Yin, L., Mano, J., Wang, S., Tsuji, W., and Tanaka, K. The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. *Plant Physiol.* -2010. -152. -P. 1406-1417.

Ж. Нұрбекова

Альберт Кацц халықаралық шөлді зерттеу мектебі, Джейкоб Блауштейн шөлді зерттеу институттары, Бен Гурион Негев университеті, Седе Бокер кампусы, 8499000, Израиль

Реактивті карбонил қосылыстарының өсімдікке улылығы

Аңдатпа. Өсімдіктерде қоршаған ортаның стресстері тотығу стрессіне, липидтердің асқын тотығуына және реактивті карбонил альдегидтерінің түзілуіне әкеледі. Реактивті карбонил альдегидтері әртүрлі экологиялық стресстер кезінде өсімдіктерде жасушаны зақымдайтын маңызды агенттер ретінде сипаттауға болатын реактивті оттегі түрлерінің төменгі ағынындағы өнімдері болып табылады. Бұл жұмыста реактивті карбонил альдегидтерінің уыттылығы және оның стресс жағдайында түзілуі талқыланады. Сонымен қатар, реактивті карбонил альдегидтерінің өсімдіктердің стресстен туындаған зақымдалуына қатысуы көрсетілген. Сондай-ақ, акролеин, малондиальдегид және кротональдегид сияқты реактивті альдегидтердің өсімдіктерге әртүрлі кернеулер кезінде токсикалық әсері және олардың жоғары электрофильділігі талқыланады. Карбонилді түрлендірілген белоктардың нәтижесінде УК-С стресске ұшыраған өсімдіктерде малондиальдегидтің жоғарылауы көрсетілді. Өйткені, малондиальдегид реактивті оттегі түрлерінің көрсеткіші ретінде көрсетуге болатын кең таралған альдегидтердің бірі болып табылады. Малондиальдегид 3-гидроксиакролеинге дейін изомерленген, ал оны диальдегид ретінде сипаттауға болады. Маңыздысы, реактивті карбонил альдегидтерінің зиянды әрекеттері және олардың химиялық қасиеттері, сондай-ақ альдегиддегидрогеназа, альдегидредуктаза, альдо-кеторедуктаза және 2-алкеналды редуктаза сияқты көптеген ферменттер арқылы реактивті карбонил альдегидтерін детоксикациялау да талқыланады.

Түйін сөздер: реактивті карбонил альдегидтер, реактивті оттегі түрлері, липидтердің гидропероксиді, уыттылық, малондиальдегид.

Ж. Нурбекова

Международная школа Альберта Каца по изучению пустынь, Институт Джейкоба Блауштайна по исследованию пустынь, Университет Бен-Гуриона в Негеве, кампус Седе Бокер, 8499000, Израиль

Токсичность реактивных карбонильных соединений для растений

Аннотация. У растений стрессы окружающей среды приводят к окислительному стрессу, перекисному окислению липидов и образованию реактивных карбонилальдегидов. Реактивные карбонилальдегиды - это продукты, находящиеся ниже по потоку от активных форм кислорода, которые можно охарактеризовать как критические агенты, повреждающие клетки растений при различных стрессах окружающей среды. В статье обсуждаются токсичность реакционноспособных карбонилальдегидов и ее образование в стрессовых условиях. Кроме того, продемонстрировано участие реактивных карбонилальдегидов в стресс-индуцированном повреждении растений. Обсуждаются токсическое действие реактивных альдегидов, таких как акролеин, малоновый диальдегид и кротоновый альдегид, на растения при различных стрессах и их высокая электрофильность. Повышение уровня малонового диальдегида было белков, модифицированных карбониллом. Поскольку малоновый диальдегид является одним из широко используемых альдегидов, который можно продемонстрировать как индикатор продемонстрировано у растений, подвергшихся воздействию УФ-С, в результате применения

активных форм кислорода. Малоновый диальдегид изомеризован в 3-гидроксиакролеин, тогда как его можно описать как диальдегид. Важно отметить, что также обсуждаются пагубное действие реакционноспособных карбонилальдегидов и их химические свойства, а также детоксикация реакционноспособных карбонилальдегидов множеством ферментов, таких как альдегид дегидрогеназа, альдегид редуктаза, альдокеторедуктаза и 2-алкеналредуктаза.

Ключевые слова: реактивные карбонилальдегиды, активные формы кислорода, гидропероксид липидов, токсичность, малоновый диальдегид.

References

1. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol.* 141, 391-396(2006).
2. Biswas, M.S., Fukaki H., Mori I.C., Nakahara K., and Mano J. Reactive oxygen species and reactive carbonyl species constitute a feed-forward loop in auxin signaling for lateral root formation. *Plant J.* 100, 536-548(2019).
3. Biswas M.S. and Mano J. Lipid Peroxide-Derived Short-Chain Carbonyls Mediate Hydrogen Peroxide-Induced and Salt-Induced Programmed Cell Death in Plants. *Plant Physiol.* 168, 885-898(2015).
4. Biswas M.S. and Mano J. Reactive carbonyl species activate caspase-3-like protease to initiate programmed cell death in plants. *Plant Cell Physiol.* 57, 1432-1442(2016).
5. Blée E. Phytooxylipins and plant defense reactions. *Prog. Lipid Res.* 37, 33-72(1998).
6. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 11, 81-128(1991).
7. Hodgson R.A.J. and Raison, J.K. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in relation to photoinhibition induced by chilling in moderate light. *Planta.* 185, 215-219(1991).
8. Mano J. Reactive carbonyl species: Their production from lipid peroxides, action in environmental stress, and the detoxification mechanism. *Plant Physiol. Biochem.* 59, 90-97(2012).
9. Mano J., Biswas M.S., and Sugimoto K. Reactive carbonyl species: A missing link in ROS signaling. *Plants.* 8, 1-23(2019a).
10. Mano J., Kanameda S., Kuramitsu R., Matsuura N., and Yamauchi Y. Detoxification of reactive carbonyl species by glutathione transferase tau isozymes. *Front. Plant Sci.* 10, 1-7(2019b).
11. Mano J., Miyatake F., Hiraoka E., and Tamoi M. Evaluation of the toxicity of stress-related aldehydes to photosynthesis in chloroplasts. *Planta.* 230, 639-648(2009).
12. Mano J., Nagata M., Okamura S., Shiraya T., and Mitsui T. Identification of oxidatively modified proteins in salt-stressed arabidopsis: A carbonyl-targeted proteomics approach. *Plant Cell Physiol.* 55, 1233-1244(2014).
13. Mano J., Tokushige K., Mizoguchi H., Fujii H., and Khorobrykh S. Accumulation of lipid peroxide-derived, toxic α,β -unsaturated aldehydes (E)-2-pentenal, acrolein and (E)-2-hexenal in leaves under photoinhibitory illumination. *Plant Biotechnol.* 27, 193-197(2010).
14. Mano J., Torii Y., Hayashi S., Takimoto K., Matsui K., Nakamura K., Inzé D., Babiychuk E., Kushnir S., and Asada K. The NADPH:Quinone oxidoreductase P1- ζ -crystallin in Arabidopsis catalyzes the α,β -hydrogenation of 2-alkenals: Detoxification of the lipid peroxide-derived reactive aldehydes. *Plant Cell Physiol.* 43, 1445-1455(2002).
15. Millar A.H. and Leaver C.J. The cytotoxic lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, specifically inhibits decarboxylating dehydrogenases in the matrix of plant mitochondria. *FEBS Lett.* 481, 117-121(2000).

16. Oberschall A., Deák M., Török K., Sass L., Vass I., Kovács I., Fehér A., Dudits D., and Horváth G.V. A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses. *Plant J.* 24, 437-446(2000).
17. Panagopoulos I., Bornman J.F., and Björn L.O. Response of sugar beet plants to ultraviolet-B (280–320 nm) radiation and Cercospora leaf spot disease. *Physiol. Plant.* 84, 140-145(1992).
18. Srivastava S., Brychkova G., Yarmolinsky D., Soltabayeva A., Samani T., and Sagi M. Aldehyde oxidase 4 plays a critical role in delaying silique senescence by catalyzing aldehyde detoxification. *Plant Physiol.* 173, 1977-1997(2017).
19. Stiti N., Adewale I.O., Petersen J., Bartels D., and Kirch H.H. Engineering the nucleotide coenzyme specificity and sulfhydryl redox sensitivity of two stress-responsive aldehyde dehydrogenase isoenzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. J.* 434, 459-471(2011).
20. Sunkar R., Bartels D., and Kirch H.H. Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance. *Plant J.* 35, 452-464(2003).
21. Widhalm J.R. and Dudareva N. A familiar ring to it: Biosynthesis of plant benzoic acids. *Mol. Plant.* 8, 83-97(2015).
22. Winger A.M., Millar A.H., and Day D.A. Sensitivity of plant mitochondrial terminal oxidases to the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal (HNE). *Biochem. J.* 387, 865-870(2005).
23. Yamauchi Y., Furutera A., Seki K., Toyoda Y., Tanaka K., and Sugimoto Y. Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 786-793(2008).
24. Yamauchi Y., Hasegawa A., Mizutani M., and Sugimoto Y. Chloroplastic NADPH-dependent alkenal/one oxidoreductase contributes to the detoxification of reactive carbonyls produced under oxidative stress. *FEBS Lett.* 586, 1208-1213(2012).
25. Yamauchi Y., Hasegawa A., Taninaka A., Mizutani M., and Sugimoto Y. NADPH-dependent reductases involved in the detoxification of reactive carbonyls in plants. *J. Biol. Chem.* 286, 6999-7009(2011).
26. Yin L., Mano J., Wang S., Tsuji W., and Tanaka K. The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. *Plant Physiol.* 152, 1406-1417(2010).

Information about author:

Нурбекова Ж. - Альберт Катц халықаралық шөлді зерттеу мектебі, Джейкоб Блауштейн шөлді зерттеу институттары, Бен Гурион Негев университеті, Седе Бокер кампусы, 8499000, Израиль.

Nurbekova Zh. - Ph.D. student at the Albert Katz International School for Desert Studies, The Jacob Blaustein Institutes for Desert Research, Ben-Gurion University of the Negev, Sede Boqer Campus, Beersheba, Israel.

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.
- 3(136)/2021 - Нұр-Сұлтан: ЕҰУ. - 93 б.
Шартты б.т. - 6,68. Таралымы - 8 дана.
Басуға қол қойылды: 27.09.2021
Ашық қолданыстағы электронды нұсқа: <http://bulbio.enu.kz>

Мазмұнына тирпография 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