

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ

BULLETIN

of L.N. Gumilyov Eurasian
National University

ВЕСТНИК

Евразийского национального
университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия **БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**

№1(130)/2020

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, 2020

Nur-Sultan, 2020

Нур-Султан, 2020

Бас редакторы: Р.І. Берсімбай

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., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан) |
| Алиқұлов З.А. | б.ғ.к., проф., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан) |
| Антипов А.Н. | б.ғ.к., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей) |
| Асқарова Ш.Н. | б.ғ.к., PhD, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан) |
| Ау У. | PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ) |
| Бисенбаев А.К. | б.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы (Қазақстан) |
| Высоцкая Л.В. | б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей) |
| 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) |
| Кухар Е.В. | б.ғ.д., доц., С.Сейфуллин атындағы ҚазАТУ, Нұр-Сұлтан (Қазақстан) |
| 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) |
| Сарбасов Д.Д. | PhD, проф., Назарбаев университеті, Нұр-Сұлтан (Қазақстан) |
| Стегний В.Н. | б.ғ.д., проф., Томск мемлекеттік университеті, Томск (Ресей) |
| Шустов А.В. | PhD, б.ғ.к., Ұлттық биотехнология орталығы, 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: eurjourbio@enu.kz

Жауапты хатшы, компьютерде беттеген:

А. Нұрболат

Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы.

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

Меншіктенуші: ҚР БжҒМ "Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті" ШЖҚ РМК

Мерзімділігі: жылына 4 рет.

Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникациялар министрлігінде 27.03.2018ж тіркелген.

№16998-Ж тіркеу куәлігі. Тиражы: 15 дана

Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ., Қажымұқан к-сі, 12/1,

тел.: +7(7172)709-500 (ішкі 31-428)

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, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| Alikulov Z.A. | Prof., Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| Antipov A.N. | Can. of Biological Sciences, Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia) |
| Askarova Sh.N. | PhD, Can. of Biological Sciences, L. N. Gumilyov ENU, 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) |
| Ilderbayev O.Z. | Doctor of Medical Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| Izzotti A. | PhD, Prof., University of Genoa, Genoa (Italy) |
| Konstantinov Yu.M. | Doctor of Biological Sciences, Prof., Irkutsk State University, Irkutsk (Russia) |
| Kukhar E.V. | Ass. Prof. Doctor of Biological Sciences, Saken Sefullin Kazakh Agriculture Technical University, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| 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) |
| Shustov A.V. | PhD, Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| Stegniy V.N. | Doctor of Biological Sciences, Prof., Tomsk State University, Tomsk (Russia) |
| Sarbassov D.D. | PhD, Prof., Nazarbayev University, Nur-Sultan (Kazakhstan) |
| Vycotskaya L.V. | Doctor of Biological Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia) |
| Zakiyan S.M. | Doctor of Biological Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia) |

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:

A.Nurbolat

Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. BIOSCIENCE Series

Owner: Republican State Enterprise in the capacity of economic conduct "L.N. Gumilyov Eurasian National University" Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

Periodicity: 4 times a year

Registered by the Ministry of Information and Communication of the Republic of Kazakhstan. Registration certificate №16998-Ж from 27.03.2018. Circulation: 15 copies

Address of printing house: 12/1 Kazhimukan str., Nur-Sultan, Kazakhstan 010008;

tel.: +7(7172) 709-500 (ext.31-428)

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., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан) |
| Аликулов З.А. | к.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан) |
| Антипов А.Н. | к.б.н., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия) |
| Аскарова Ш.Н. | к.б.н., PhD, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, 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) |
| Высоцкая Л.В. | д.б.н., проф., Институт Цитологии и генетики, Новосибирск (Россия) |
| 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) |
| Кухар Е.В. | д.б.н., доц., КазАТУ имени С. Сейфуллина, Нур-Султан (Казахстан) |
| 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) |
| Сарбасов Д.Д. | PhD, проф., Назарбаев Университет, Нур-Султан (Казахстан) |
| Стегний В.Н. | д.б.н., проф., Томский государственный университет, Томск (Россия) |
| Шустов А.В. | PhD, к.б.н., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан (Казахстан) |

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

Ответственный секретарь, компьютерная верстка:
А. Нурболат

Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева.
Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Собственник: РГП на ПХВ "Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева" МОН РК

Периодичность: 4 раза в год

Зарегистрирован Министерством информации и коммуникаций Республики Казахстан.

Регистрационное свидетельство №16998-Ж от 27.03.2018г.

Тираж: 15 экземпляров

Адрес типографии: 010008, Казахстан, г. Нур-Султан, ул. Кажимукана, 12/1,
тел.: +7(7172)709-500 (вн.31-428)

Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІНІҢ
ХАБАРШЫСЫ. БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР СЕРИЯСЫ

1(130)/2020

МАЗМҰНЫ

| | |
|--|----|
| <i>Абасова Н.М.</i> Цитрус аққұбасы (<i>Dialeurodes citri</i> Ashmead, 1885) Әзірбайжанның Ланкаран-Астара аймағында | 8 |
| <i>Бабак В.А., Жакупов Е.Ж., Пунтус И.А., Мухамеджанов А.К., Ергазы Б., Мертасов А.Г.</i> Азотфиксациялайтын және фосфатмобилизациялайтын бактериялар негізінде биологиялық тыңайтқыштарды құрастыру | 14 |
| <i>Қали Б.Р., Абеуова Л.С., Рахимжанова А.Ө., Манабаева Ш.А.</i> Картоп өсіндісі жасушаларының морфогенетикалық үрдістер ерекшеліктері | 23 |
| <i>Токашева Д.С., Иқсат Н.Н., Омаров Р.Т.</i> Магний мен марганецтің өсімдіктер ауруларының дамуындағы биологиялық рөлі | 31 |
| <i>Пунтус И.А., Жасланова К.Н., Салхожаева Г.М., Тыныкулов М.К., Уразов К.М.</i> ВНК-21 жасуша линияларын өсіруде қолайлы технологиялық параметрлер | 37 |
| <i>Жирнова И.А., Рысбекова А.Б., Жакенова А.Е., Дюсибаева Э.Н., Сейтхожаев А.И.</i> Егістік тарының (<i>Rapiscit tiliaceum</i> L.) еріксіз жасанды будандастыру тәсілдерінің нәтижелілігін бағалау | 47 |

**BULLETIN OF L.N. GUMILYOV EURASIAN NATIONAL UNIVERSITY.
BIOSCIENCE SERIES**

1(130)/2020

CONTENTS

| | |
|---|----|
| <i>Abasova N.M.</i> Bio ecological features of citrus whitefly (<i>Dialeurodes citri</i> Ashmead, 1885) and their population level in subtropical plants in the Lankaran-Astara region of Azerbaijan. | 8 |
| <i>Babak V.A., Zhakupov E.Zh., Puntus I.A., Mukhamedzhanov A.K., Ergazy B., Mertassov A.G.</i> Construction of biological fertilizer based on nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria | 14 |
| <i>Kali B.R., Aheuova L.S., Rakhimzhanova A.O., Manabaeva Sh.A.</i> Features of morphogenetic processes of the cells of the potato | 23 |
| <i>Tokasheva D.S., Iksat N.N., Omarov R.T.</i> Magnesium and manganese biological role in crops diseases | 39 |
| <i>Puntus I.A., Zhaslanova K.N., Salkhozhayeva G.M., Tynykulov M.K., Urazov K.M.</i> The optimal technological parameters of cultivation of the cell line VNK-21 | 45 |
| <i>Zhirnova I.A., Rysbekova A.B., Dyussibayeva E.N., Zhakenova A.Ye., Seitkhozhayev A.I.</i> Evaluation of the effectiveness of artificial forced hybridization methods for proso millet (<i>Panicum miliaceum</i> L.) | 47 |

ВЕСТНИК ЕВРАЗИЙСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА
ИМЕНИ Л.Н.ГУМИЛЕВА. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

1(130)/2020

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| <i>Абасова Н.М.</i> Цитрусовая белокрылка (<i>Dialeurodes citri</i> Ashmead, 1885) в Ленкоран- Астаринской области Азербайджана | 8 |
| <i>Бабак В.А., Жакупов Е.Ж., Пунтус И.А., Мухамеджанов А.К., Ергазы Б.,</i> <i>Мертасов А.Г.</i> Конструирование биологического удобрения на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий | 14 |
| <i>Кали Б.Р., Абеуова Л.С., Рахимжанова А.О., Манабаева Ш.А.</i> Особенности морфогенетических процессов культуры клеток картофеля | 23 |
| <i>Токашева Д.С., Икнат Н.Н., Омаров Р.Т.</i> Биологическая роль магния и марганца в развитии заболеваний у растений | 31 |
| <i>Пунтус И.А., Жасланова К.Н., Салхожаева Г.М., Тыныжулов М.К., Уразов К.М.</i> Оптимальные технологические параметры культивирования линии клеток ВНК-21 | 37 |
| <i>Жирнова И.А., Рысбекова А.Б., Жакенова А.Е., Дюсибаева Э.Н., Сейтхожаев А.И.</i> Оценка результативности способов искусственной принудительной гибридизации просо посевного (<i>Panicum miliaceum</i> L.) | 47 |

БИОЛОГИЯ



МРНТИ 34.33.19

Н.М. Абасова

*Национальная академия наук Азербайджана, Институт зоологии, Баку, Азербайджан
(E-mail: nezaket.abasova83@gmail.com)*

Цитрусовая белокрылка (*Dialeurodes citri* Ashmead, 1885) в Ленкоран-Астаринской области Азербайджана

Аннотация: Приводятся результаты проведенных в течение 2017-2019 гг. исследований некоторых биологических и экологических особенностей цитрусовой белокрылки, причиняющей ущерб цитрусовым и субтропическим растениям в Ленкоран-Астаринской области Азербайджана. Установлены кормовые предпочтения вредителя, включающие 4 вида цитрусовых растений - лимон, мандарин, апельсин, кинкан, по субтропическим культурам - вредитель отмечался только на хурме. Проведенный феномониторинг позволил определить сроки развития отдельных стадий белокрылки, число поколений и зимующие стадии. Установлено, что в условиях юга Азербайджана белокрылка зимует как на стадии личинки 3 возраста, так и на стадии пупариев. Определена плодовитость самок и средняя продолжительность жизни имаго разных поколений, которые составили: 1 поколение - 78-83 дня; 2-поколение- 45-46 дней; 3-поколение- 239-245 дней. Также установлена вредоносность белокрылки по числу зараженных деревьев каждого вида на участках, среднему числу пораженных листьев на растении и плотности вредителя на листьях, максимальное значение отмечалось на лимоне, оно составило 50-60 особей на лист. Этот показатель близок к порогу вредоносности вида, что требует применения мер борьбы.

Ключевые слова: цитрусовая белокрылка, личинка, пупарии, имаго, полифаг, агроценоз, мониторинг.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-8-13>

Введение. Цитрусовая белокрылка (*Dialeurodes citri* Ashmead), вредитель-полифаг, поражает более 100 видов растений [8, 9]. Основными кормовыми растениями являются субтропические и цитрусовые культуры. Питается растительным соком. После появления белокрылки на нижней стороне молодых листьев, они быстро желтеют, деформируются и опадают из-за расщепления хлорофилла. При большой площади поражения у растения замедляются рост и развитие, плоды теряют качество. Липкие выделения белокрылки способствуют распространению сажистых грибов. В связи с общим ослаблением растения осложняется их зимовка, что может привести к гибели. Родиной цитрусовой белокрылки считается юго-восточная Азия (Китай, Япония, Индия). Этот вид относится к семейству Aleyrodidae отряда Homoptera. На территории бывшего СССР впервые этот опасный вредитель был отмечен в Грузии в 1957 г. на мандаринах [2]. На Средиземноморском побережье Турции цитрусовая белокрылка была отмечена в 1976 году [10,11]. В Азербайджане сведения о распространении вида *Dialeurodes citri* приводятся в работе Мустафеевой Г.А. [1]. В нашей работе исследовались вопросы биологии, экологии, вредоносности и степени пораженности растений этим вредителем.

Постановка задачи, цели и история. С целью проведения учетов численности вредителей были выбраны стационарные участки, на которых отмечалось равное количество

деревьев одного вида. Также проводились наблюдения за поведением насекомых и развитием отдельных их стадий, учеты численности и определялась степень поражения различных вегетативных и генеративных органов растения [4]. На этих деревьях, с равной периодичностью в 10 дней, с апреля по октябрь проводились наблюдения и учеты [5].

Методы исследования. Полевая часть исследовательской работы проводилась в весенне-осенний период в течение 2017-2019 гг. в селах Ленкоран-Астаринского региона (села: Шилевар, Дигах, Виян, Гирдяни, Арчиван) юго-восточной части Азербайджана. Она состояла в сборе насекомых с деревьев и кустарников (природные и агроценозы) на разных стадиях развития (имаго, личинки, яйца), ручным способом, а также с помощью сачка, эксгаустера, общепринятыми в энтомологии способами [4].

Влажный субтропический климат Ленкоран-Астаринской области способствовал формированию здесь особого растительного покрова с большой долей субтропических растений в его составе. С середины XX века сюда были завезены цитрусовые культуры, которые на сегодняшний день стали преобладающими. Среди обследованных растений были: лимон (*Citrus limon* L.), мандарин (*Citrus reticulata* B.), апельсин (*Citrus sinensis* L.), хурма (*Diospyros kaki*), кинкан (*Fortunella margarita* (Lour.) Swingle).

Лабораторные работы проводились в лаборатории "Интродукции полезных насекомых и научных основ биологической борьбы", впоследствии "Центр прикладной зоологии", Института зоологии НАН Азербайджана.

Для видового определения вредителей в естественных условиях проводились наблюдения и брались образцы отдельных вегетативных органов, которые в лабораторных условиях рассматривались при увеличении в 10-20 раз под бинокулярной лупой.

В осенние и зимние месяцы в ходе экспедиционных поездок проводились наблюдения за биоэкологическими особенностями вредителей. Взятые особи *Dialeurodes citri* содержались на ватных слоях. После приготовления препаратов материал помещался в 70% ный -раствор спирта для хранения. Весь материал этикетирован.

Для содержания в лабораторных условиях, с целью изучения жизненного цикла *Dialeurodes citri*, сроков развития отдельных стадий, времени лета, живые особи рассаживались в индивидуальные пробирки и откармливались. Для определения плодовитости самок белокрылки были подсчитаны отложенные яйца и вышедшие из них личинки. При кормлении разными видами растений определялись кормовые предпочтения вида. С целью определения степени пораженности растений цитрусовой белокрылкой проводился визуальный осмотр растений и учет вредителя на верхней и нижней стороне листьев. Кроме того, определялось среднее число пораженных листьев [6].

Пораженность разных видов растений оценивалась по 5- бальной шкале:

- 1 - единичные особи;
- 2 - взрослые особи, личинки, яйца на 10% листьев;
- 3 - взрослые особи, личинки, яйца от 11 до 30% листьев;
- 4 - взрослые особи, личинки, яйца от 31 до 60% листьев;
- 5 - взрослые особи, личинки, яйца от 61 до 100% листьев.

Плотность белокрылки на листовой пластинке:

- единичные особи.
- плотность белокрылки до 50 особей на лист;
- плотность белокрылки до 100 особей на лист.

Результаты и их обсуждение. Длина тела взрослой особи цитрусовой белокрылки - 1,6-2 мм, при размахе крыльев - 3,2 мм. Тело блестящее, желтоватого или зеленоватого цвета. На крыльях мучнистый, восковой налет белого цвета, из-за чего они кажутся белыми [7]. Цитрусовая белокрылка заселяет нижнюю сторону молодых листьев. В спокойную погоду они активны в течение дня и хорошо заметны. В ветреную погоду они защищаются, образуя скопления. В условиях юга Азербайджана белокрылка развивается в трех поколениях в течение года. Зимует на стадии личинок 3-го поколения. С начала апреля до конца июня происходит лет взрослых особей белокрылки [3]. В таблице 1 приводятся сроки развития

и продолжительность каждого поколения по наблюдениям, проводимым во все периоды в течение трех лет (2017-2019 гг.).

Таблица 1. Сроки развития *Dialeurodes citri* Ashm. в условиях юга Азербайджана

| Срок развития одного поколения (от имаго до имаго) | Продолжительность (в днях) |
|---|-------------------------------|
| 2017-2018- 2019 | |
| 1. Начало апреля – середина июня | 78-83 |
| 2. 3-я декада июня - начало августа | 45-46 |
| 3. Начало августа - конец марта | 239-245 |

Как видно из таблицы 1, самое короткое по продолжительности развития второе поколение происходит в середине лета, т.е. в самый жаркий период составляет 45-46 дней. Самое же длительное (239-245 дней) – третье поколение, сюда относится зимующая стадия. Оптимальная влажность воздуха для развития *Dialeurodes citri* Ashm. составляет 80-85%. В таблице 2 приводится средняя продолжительность жизни имаго белокрылки.

Таблица 2. Продолжительность жизни имаго разных поколений *Dialeurodes citri* Ashm.

| Поколения | Продолжительность стадии (в днях) | Среднее значение |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------|
| Имаго поколения I | 11-16 | 12.0 |
| Имаго поколения II | 31-46 | 35.8 |
| Имаго поколения III | 16-21 | 17.5 |

Самки достигают половой зрелости на 1-4 день. Они откладывают яйца на нижнюю сторону молодых листьев. При высокой плотности яйца могут быть отложены и на верхнюю сторону листовой пластинки, а также и на другие органы растения. В наших исследованиях плодовитость одной самки составила 180-250 яиц. Яйца овальные, желтоватые, очень мелкие. Средняя продолжительность развития яиц *Dialeurodes citri* Ashm. в Ленкоран-Астаринской области составляет 16-25 дней. Вылупившиеся личинки – бродяжки – плоскоовальные, с короткими усиками; подвижные. Во всех поколениях личинки проходят три линьки, т.е. три возраста. По литературным источникам, зимуют личинки 2-го или 3-го возраста 3-го поколения. Средняя продолжительность развития этой стадии, по нашим наблюдениям, составила 24-30 дней. Нимфы 3-го возраста образуют пупарии. Пупарии имеют эллипсоидную форму, желтоватый цвет. С ноября по март пупарии не наблюдались. Стадия пупарий развивается в зависимости от поколения, от 13 до 30 дней. В наших исследованиях наблюдалось, что часть белокрылок, приблизительно 2-3%, в Ленкоран-Астаринской области зимуют на стадии пупариев. Большая часть перезимовавших личинок 3-го поколения окукливаются в середине марта, в первой декаде апреля появляются имаго 1 поколения следующего года.

Симптомы заражения. Основными кормовыми растениями являются цитрусовые культуры, кроме того, успешно развиваются на банане, лавре, хурме, груше, маслиновом дереве, гранате, чайном кусте и др. Питаются высасыванием растительного сока, что приводит к разрушению хлорофилла, появлению желтых пятен на листьях. Листья деформируются, высыхают и опадают. Это в свою очередь приводит к ослаблению растения. Плоды теряют качество.

Вышедшие весной имаго белокрылки откладывают яйца в первую очередь на листья основных кормовых растений - цитрусовых. В случае высокой плотности они переходят

на вторичные кормовые растения. В наших исследованиях, осенью на скинувших листву растениях были обнаружены имаго 2-го поколения, а также яйца и личинки 3-го поколения.

В таблице 3 приводятся данные проведенного в течение 2017-2019 гг. мониторинга распространения в Ленкоран-Астаринской области цитрусовой белокрылки.

Таблица 3. Степень зараженности цитрусовых и субтропических растений цитрусовой белокрылкой в Ленкоран-Астаринской области Азербайджана (2017-2019 гг.)

| Название растения | Среднее число зараженных деревьев на участках (%) | Среднее число пораженных листьев (%) | Максимальная плотность вредителя на 1 листе |
|-------------------|---|--------------------------------------|---|
| лимон | 46 | 25 | 50-60 |
| мандарин | 41 | 20 | 30-40 |
| апельсин | 39 | 20 | 30-40 |
| кинкан | 32 | 15 | 20-30 |
| хурма | 28 | 20 | 20-30 |

При проведении обследования пяти видов растений было установлено, что на всех участках лимонные и мандариновые деревья были заражены в большей степени (46 и 41%). Так, на одном из стационарных участков на 12 из 25 лимонных деревьев была зарегистрирована белокрылка. Среднее число листьев, на которых были обнаружены личинки или имаго вредителя составило более 25%, т.е. – 3 балла по пятибалльной шкале. При осмотре листьев было отмечено неравномерное распределение вредителя на нижней поверхности листьев, от единичных особей до нескольких десятков. Плотность вредителя на отдельных листьях была высокой и доходила до 50 - 60 особей на одну листовую пластинку. В книге Танского В.И. [4], в приложении, приводится таблица «Экономические пороги вредоносности главнейших вредных видов насекомых и клещей» по которой для белокрылки на томатах порог вредоносности считается 10 особей имаго на лист или 400 на все растение. Исходя из этих показателей, полученные в наших исследованиях значения вредоносности можно считать близкими к порогу вредоносности, что означает необходимость применения мер борьбы.

Заключение. В ходе проведения мониторинга в природных условиях Ленкоран-Астаринской области было установлено, что *D. citri* Ashm. развивается в 3-х поколениях.

I поколение начинается в первой декаде апреля и длится до II половины июня.

II поколение начинается со II декады июня и продолжается до первой декады августа.

III поколение начинается со II декады августа и продолжается до конца марта или первой декады апреля следующего года.

Зимуют личинки и пупарии III поколения.

Исследование степени пораженности разных видов цитрусовых и субтропических растений вредителем *Dialeurodes citri* Ashm. показало, что цитрусовые в большей степени подвержены заражению.

Выводы. Результаты проведенного феномониторинга показали, что в условиях юга Азербайджана цитрусовая белокрылка развивается в 3-х поколениях, зимует на стадии личинок 3-го возраста и пупариев. Определены сроки развития отдельных стадий и продолжительность жизни имаго разных поколений. Установлены плодовитость самок и вредоносность вредителя на разных растениях. Самый высокий показатель вредоносности отмечался на лимоне.

Список литературы

- 1 Мустафаева Г.А. Видовой состав и трофические связи Азербайджанских белокрылок (Homoptera, Aleyrodidae) // Труды Зоологического общества Азербайджана, 2016. - Баку, 2016. - С.65-71.
- 2 Игнатова, Е.А., Карпун Н.Н., Изменения фитосанитарного состояния агроэкосистем влажных субтропиков РФ // Субтропическое и декоративное садоводство: сб. науч. тр. - 2011. - № 44. - С. 213-218.
- 3 Синадский Ю.В. и др. Болезни и вредители растений-интродуцентов: - М.: Наука, 1990. - 228 с.
- 4 Танский В.И. Биологические основы вредоносности насекомых: - М.: ВО Агропроиздат, 1988.
- 5 Фасулати К.К. Полевое изучение наземных беспозвоночных. - М.: Высшая школа, 1971.

- 6 Шестеперов А.А., Колесова Е.А., Белякова О.А. Пораженность растений белокрылкой оранжерейной в тепличном хозяйстве // Журнал «Теория и практика паразитарных болезней животных». - 2016. - С. 521-524.
- 7 Gargani E. Observations on *Dialeurodes citri* (Ashmead) (Homoptera Aleyrodidae) and its natural enemies in Tuscany // Redia. -1990. Т.73. - №1. -P.7-16.
- 8 Pimala M., Milek T. M., Pintar M. Alien whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe recorded in Croatia [Conference poster]. In: Zbornik predavanj in referatov 12. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, 3.-4. marec 2015, Ptuj, Slovenija [Zbornik predavanj in referatov [ed. by Trdan S]. Ljubljana, Slovenia: Društvo za Varstvo Rastlin Slovenije. 2015, -P.267-271.
- 9 Peleg B.A. Evaluation of 2 IGR's, Tiger and Uplord, as selective control agents for the citrus whitefly *Dialeurodes citri* (Ashmead) (Homoptera: Aleyrodidae). - Hassadeh. - 1990. - Т.70. - №5. -P.722.
- 10 Алкан Б.В. Цитрусовые болезни и вредители Анкары (в Турции). - Анкара: Издание сельскохозяйственного факультета, 1953.
- 11 Сойлу О., Урел Н. Исследования по обнаружению паразитов и хищников вредителей в цитрусовых Южно-Анадолинского региона // Вестник защиты растений. -1977. - Т.17 - №2-4. -P.77-112.

Н.М. Абасова

Әзірбайжан Ұлттық ғылым академиясы, Зоология институты, Баку, Әзірбайжан

Цитрус аққұбасы (*Dialeurodes citri* Ashmead, 1885) Әзірбайжанның Ланкаран-Астара аймағында

Аннотация. Әзірбайжанның Ланкаран-Астара аймағындағы цитрус және субтропикалық өсімдіктерге зиян келтіретін цитрус аққұлының кейбір биологиялық және экологиялық ерекшеліктерін 2017-2019 жылдар аралығында жүргізілген зерттеулердің нәтижелері келтірілген. Зиянкестердің жемдік преференциялары белгіленді, оның ішінде цитрустық өсімдіктердің 4 түрі - лимон, мандарин, апельсин, кинкан, субтропикалық дақылдардан тек құрттар ғана байқалды. Жүргізілген феномониторинг аққұбаның жеке сатыларының даму кезеңдерін, ұрпақтар санын және қыстау кезеңдерін анықтауға мүмкіндік берді. Әзірбайжанның оңтүстігінде, ақ құрсақтағы 3 жасар личинкалар сатысында да, жұмыртқа сатысында да ұйықтайтыны анықталды. Әр ұрпақтағы аналықтардың туу қабілеттілігі және орташа өмір сүру ұзақтығы анықталды, олар: 1-ші ұрпақ - 78-83 күн; 2-буын - 45-46 күн; 3 буын - 239-245 күн. Уайтфли сонымен қатар учаскелердегі әр түрдің жұқтырған ағаштарының саны, өсімдіктердегі ауру жапырақтарының орташа саны және жапырақтардағы зиянкестердің тығыздығы бойынша зиянды екендігі анықталды, лимонның максималды мәні лимонға белгіленді, ол бір жапырақ үшін 50-60 адамды құрады. Бұл көрсеткіш бақылаудың шараларын қолдануды қажет ететін түрлердің зияндылық шегіне жақын

Түйін сөздер. цитрустық ақгүл; личинка; пупария; имаго; полифаг; агроценоз; бақылау ұрықтылық; буын; зияндылығы.

N.M.Abasova

Azerbaijan National Academy of Sciences of Institute of Zoology, Baku, Azerbaijan

Bio ecological features of citrus whitefly (*Dialeurodes citri* Ashmead, 1885) and their population level in subtropical plants in the Lankaran-Astara region of Azerbaijan

Abstract. Citrus whitefly (*Dialeurodes citri* Ashmead) is a polyphage pest that affects more than 100 plant species [8,9]. The main fodder plants are subtropical and citrus crops. It feeds on vegetable juice. After the appearance of whiteflies on the underside of young leaves, they quickly turn yellow, deform and fall off due to the splitting of chlorophyll. In case of a large damaged area, growth and development of the plant slows down, the fruits lose their quality. Sticky excreta of whitefly contributes to the spread of sooty mold. Due to the general weakening of the plant, their wintering is complicated, which can lead to the death. Southeast Asia (China, Japan, India) is considered as a birthplace of citrus whitefly. This species belongs to the Aleyrodidae family: group of Homoptera. In the territory of the former USSR, this dangerous pest was first noted in Georgia in 1957 on tangerines [2]. On the Mediterranean coast of Turkey, citrus whitefly was recorded in 1976. [10,11]. In Azerbaijan, the information about the distribution of the species of *Dialeurodes citri* is given in the work of G. A. Mustafayeva. [1].

There were investigated issues on biology, ecology, harmfulness and degree of damage of plants by this pest in our work.

Keywords. polyphage; agroecosis; wings; monitoring; ecology; citrus whitefly; larva; puparia; imago

References

- 1 Mustafayeva G.A. Vidovoy sostav i troficheskiye svyazi Azerbaydjanskix belokrilok (Homoptera, Aleurodoidae) [Species composition and trophic relations of Azerbaijani whiteflies (Homoptera, Aleurodoidae)] Trudi Zoologicheskogo obshchestva Azerbaydjana [Works of the Azerbaijan Zoological Society] (Baku, 2016, P.65-71). [In Russian]
- 2 Ignatova E.A., Karpun N.N. Izmeneniye fitosanitarноgo sostoyaniya agroekosistem vлajnix subtropikov RF [Changes in the phytosanitary state of agroecosystems of wet subtropics of the Russian Federation], Subtropicheskiye i dekorativnoe sadovodstvo sb: nauch.tr. [Subtropical and ornamental horticulture: collection of scientific papers], 44, 213-218 (2011). [In Russian]
- 3 Sinadskiy U.V. I druqie. Bolezni i vrediteli rasteniy- introducentov [Diseases and pests of introduced plants] (VO Agroproizdat, Moscow, 1990) [In Russian]
- 4 Tanskiy V.I. Biologicheskkiye osnovi vrednosnosti nasekomix [Biological basis of the harmfulness of insects] (Moscow, 1988) [In Russian]

- 5 Fasulati K.K. Polevoe izucheniye nazemnix bespozvonochnix [Field study of terrestrial invertebrates] (Higher School, Moscow, 1971 p.) [In Russian]
- 6 Shesteporov A.A., Kolesova E.A., Belyakova O.A. Porajennost rasteniy belokrilkoy oranjereynoy v teplichnom xozyaystve [The affection of plants with the white-winged greenhouse in the greenhouse], Teoriya i praktika parazitarnykh boleznej zivotnykh [Theory and Practice of Parasitic Animal Diseases (521-524 (2016)).
- 7 Gargani E, 1990. Observations on *Dialeurodes citri* (Ashmead) (Homoptera Aleyrodidae) and its natural enemies in Tuscany. *Redia*, 73(1):7-16.
- 8 Pimala M., Milek T. M, Pintar M. Alien whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe recorded in Croatia [Conference poster]. In: Zbornik predavanj in referatov 12. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležobo, 3.-4. marec 2015, Ptuj, Slovenija., [ed. by Trdan S]. Ljubljana, Slovenia: Društvo za Varstvo Rastlin Slovenije. p.267-271.
- 9 Peleg B.A. Evaluation of 2 IGR's, Tiger and Uplord, as selective control agents for the citrus whitefly *Dialeurodes citri* (Ashmead) (Homoptera: Aleyrodidae). *Hassadeh*, 70(5), 722. (1990)
- 10 Alkan B. V. Citrusovye bolezni i vrediteli Ankary (v Turcii) [Citrus diseases and pests of Ankara (in Turkey) (Agricultural Faculty Edition, Ankara, 1953).
- 11 Soilu O., Urel N., Issledovanija po obnaruzheniju parazitov i hishnikov vreditel'ej v citrusovykh Juzhno-Anadolinskogo regiona [Research on the detection of parasites and predators of pests in citrus fruits of the South Anadolinsky region], *Vestnik zashhity rastenij* [Plant Protection Bulletin], 2-4 (17), 77-112 (1977).

Сведения об авторе:

Абасова Н.М. диссертант (аспирант), Национальная академия наук Азербайджана, Институт зоологии, ул. А.Аббасзаде, 1128 пер., 504, Баку, Азербайджан.

Abasova N.M. - PhD student (graduate student), Institute of Zoology of ANAS, A. Abbaszade str., 1128, block 504, Baku, Azerbaijan.

Поступила в редакцию 04.02.2020

В.А. Бабак, Е.Ж. Жакупов, И.А. Пунтус, А.К. Мухамеджанов, Б. Ергазы, А.Г.Мертасов

Товарищество с ограниченной ответственностью «BIOTRON Progress», Степногорск, Казахстан

(E-mail: vgvvm2003@mail.ru, zhakupov_bio@mail.ru, puntusira@mail.ru, mk-aslan@mail.ru, bergengul_pvl@mail.ru, mertassov@mail.ru)

Конструирование биологического удобрения на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий

Аннотация: В статье приведены описание оптимальных параметров глубинного суспензионного культивирования штаммов *Raoultella oxytoca* 15MS и *Serratia plymuthica* 35MS, технологии их масштабирования. Изучены азотфиксирующие свойства штамма *R. oxytoca* 15MS методом ПЦР и определены фосфатмобилизирующие свойства штамма *S. plymuthica* 35MS на селективной питательной среде. Дана оценка биоудобрения по физико-химическим и биологическим показателям, изучена его стабильность (титр энтеробактерий через 6 месяцев хранения остается на уровне экологически значимой величины (от 22,0 до 36,0 млн КОЕ/мл).

Ключевые слова: ризобактерии, азотфиксирующие бактерии, фосфатмобилизирующие бактерии, биологическое удобрение, плодородие, почва, культивирование.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-14-22>

Введение. Почва – основное средство сельскохозяйственного производства. Присущее ей свойство - плодородие - широко используется в практике для производства всех необходимых человеку видов сельскохозяйственной продукции. При использовании почвы её плодородие снижается, поскольку для производства растениеводческой продукции расходуются органические вещества и элементы минерального питания, ухудшаются условия водно-воздушного режима и другие параметры.

Особенностью развития современного сельского хозяйства является необходимость наращивания производства сельскохозяйственной продукции и восстановление почвенного плодородия.

Экономический и экологический кризис, снижение качества продукции растениеводства, падение естественного плодородия почв обуславливают всевозрастающее внимание к биологическому земледелию, суть которого заключается в использовании потенциальных возможностей естественных экосистем, в частности, почвенных микроорганизмов [1, 2].

Микрофлора почвы оказывает непосредственное влияние на её плодородие и состав и, как следствие, на урожайность растений. Почвенные микроорганизмы в процессе роста и развития улучшают структуру почвы, накапливают в ней питательные вещества, минерализуют различные органические соединения, превращая их в легко усвояемые растениями компоненты питания. Для стимуляции этих процессов применяют различные бактериальные удобрения с полезными микроорганизмами, обогащающими ризосферный слой почвы, прилегающий к корням растения, питательными веществами. Микроорганизмы, используемые для производства бактериальных препаратов, способствуют снабжению растений не только элементами минерального питания (азотом и фосфором), но и физиологически активными веществами (фитогормонами, витаминами и др.) [3,4]. Положительное действие многих биопрепаратов также обусловлено их фитосанитарной функцией – за счет вытеснения патогенных почвенных микроорганизмов и ингибирования их размножения.

Почвенная микрофлора разлагает органические субстанции и разрабатывает ценные формы гумуса в глубинных слоях земли. Жизненные процессы в почве играют ключевую роль для ее строения, плодородия, роста и развития растений.

Самую обширную и разнообразную по своим свойствам группу почвенных микроорганизмов представляют свободноживущие и симбиотические азотфиксирующие бактерии. Они способны

усваивать азот атмосферы посредством ассоциативных связей с корневой системой или наземной вегетативной частью растений злаковых, пасленовых и др. семейств [5].

Фосфор, как известно, является одним из важнейших биогенных элементов, при участии которого в животных и растительных организмах протекают процессы синтеза нуклеиновых кислот, белков, углеводов и осуществляется энергетический обмен. И одновременно фосфор является основным лимитирующим элементом питания для растений в почве. Недостаток фосфора в ранний период развития растения уже нельзя будет компенсировать обильным фосфорным питанием в последующие фазы роста [6]. Фосфатмобилизирующие микроорганизмы почвы способствуют растворению труднодоступных неорганических и органических фосфатов до усвояемых растениями водорастворимых форм.

Разнообразные биохимические процессы, протекающие в почве, обусловлены, прежде всего, жизнедеятельностью многочисленной армии микроорганизмов. Между микрофлорой почвы и растениями эволюционно сформировались сложные взаимоотношения как симбиотического, так и антагонистического характера [7]. Симбиоз между растениями и почвенными бактериями имеет в основном трофическую природу. Растения, выделяя через корни различные специфические органические соединения, способствуют формированию определенного типа микробиоценоза в зоне своей ризосферы. Жизнедеятельность микроорганизмов, в свою очередь, в значительной степени определяет режим корневого питания растений, их устойчивость к заболеваниям и неблагоприятным условиям среды, а в конечном итоге – урожайность [8].

Экспериментально установлено, что азот, фиксированный микроорганизмами, на 100% усваивается растениями, в то время как азот минеральных удобрений – всего на 50%. Помимо этого, биологический азот практически бесплатный, так как бактерии для осуществления азотфиксации используют энергию органических веществ, синтезированных растениями в процессе фотосинтеза [9].

Цель исследований. Целью наших исследований являлось конструирование и комплексная оценка комбинированного биологического удобрения для повышения плодородия почв на основе фосфатмобилизирующих и азотфиксирующих бактерий и масштабирование технологии его производства.

Методы исследований. Объектами исследований являлись штаммы бактерий *Raoultella Oxytoca* 15MS (азотфиксирующий компонент, АФК) и *Serratia Plymuthica* 35MS (фосфатмобилизирующий компонент, ФМК) из музейной коллекции ТОО «BIOTRON GROUP».

Для получения посевного материала использовали агаризованные плотные питательные среды. При накоплении микроорганизмов в большом количестве использовали жидкие питательные среды для пилотного и промышленного масштабирования.

Для сравнительной оценки культивирования азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий использовали несколько вариантов жидкой питательной среды. Базовыми вариантами являлись среды:

- среда Эшби с мелассой;
- среда кукурузно-меласзная жидкая;
- бобовая среда жидкая.

Морфологическую оценку культивируемых штаммов проводили в световом микроскопе ZeissStandart 25 с темнопольной и фазово-контрастной приставкой.

Оптимизацию компонентного состава питательной среды и режимов культивирования (температура, аэрация, инокулят, рН и др.) проводили традиционными микробиологическими и биохимическими методами, основанными на законах, описывающих протекание фундаментальных процессов микробиосинтеза - накопление биомассы, изменение содержания компонентов питательной среды, прохождение физиологических фаз в периодической культуре.

Масштабирование производственных культур проводили в ферментерах объемом 120, 630 и 5000 литров, с использованием режимов раздельного и совместного культивирования.

Подсчет количества выросших колоний производили после 72 часового выращивания культуры в термостате при температуре $29 \pm 1^\circ \text{C}$, а также на всех этапах масштабирования процесса.

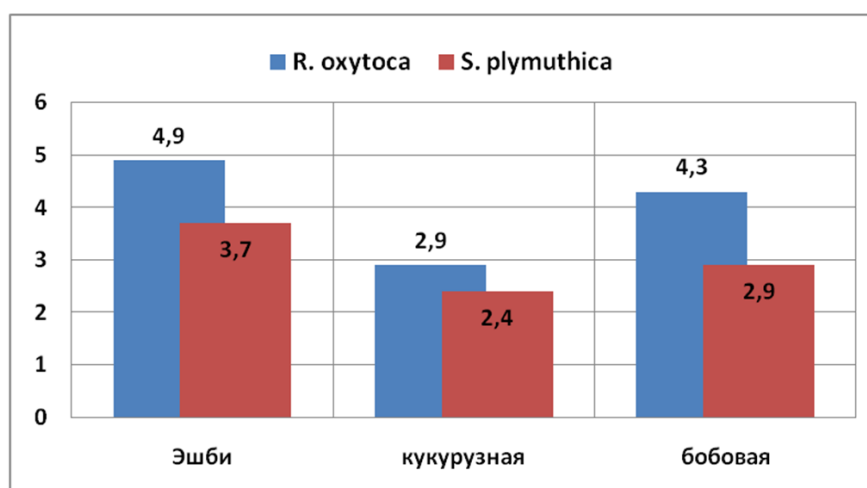
Оценку качества биоудобрения проводили по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям в соответствии с требованиями стандарта организации.

Оценку выживаемости фосфатмобилизующих и азотфиксирующих бактерий проводили в нескольких температурных режимах при хранении до 6-ти месяцев.

Результаты исследований. Пересев культуры производили в пробирки с остывшим скопленным агаром с кукурузно-меласной средой из пробирок с рабочей культурой бактерий, после чего засеянные пробирки выдерживали в термостате при температуре $+(28 \pm 1)^\circ \text{C}$ в течение 2-3-х суток.

Стекланные колбы-качалки со стерильной питательной средой засеивали свежей 2-3-х суточной рабочей культурой бактерий *R. Oxytoca* 15MS и *S. Plymuthica* 35MS из пробирок.

Подбор оптимальной среды выращивания, обеспечивающей высокий титр исследуемых микроорганизмов, проводили в процессе отдельного суспензионного культивирования монокультур штаммов на лабораторной термостатируемой качалке. На рисунке 1 представлены данные роста на 3-х питательных средах (среда Эшби с мелассой жидкая, среда кукурузно-меласная жидкая, бобовая среда жидкая) при внесении 10% инокулюма от объема среды, при температуре $+(28 \pm 0,5)^\circ \text{C}$, скорости вращения качалки – (190 ± 25) об./мин, времени культивирования – 48 часов.



Рисунк 1 – Динамика численности *R. Oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS в процессе отдельного глубокого культивирования в жидких средах

Результаты эксперимента, приведенные на рисунке 1, свидетельствуют, что все испытанные среды пригодны для выращивания микроорганизмов. Более высокие титры культур обеспечивала среда Эшби с мелассой, в которой число жизнеспособных клеток *R. Oxytoca* 15MS через двое суток культивирования в 1,6 раза выше, чем в кукурузно-меласной среде. Аналогичная тенденция выявлена и для *S. plymuthica* 35MS: титр биоагента в среде Эшби с мелассой превышает таковой в двух других средах в среднем в 1,4 раза. Бобовая среда показывала удовлетворительные результаты по накоплению обоих штаммов, однако ее закисление происходило быстрее, чем в других вариантах. Поэтому дальнейшая экспериментальная работа была продолжена с использованием среды Эшби с мелассой, с некоторым ее обогащением.

Инокулят для загрузки производственных штаммов в биоферментеры накапливали в 3-х литровых металлических колбах на жидкой питательной среде Эшби с мелассой, при температуре $+(28 \pm 0,5)^\circ \text{C}$, скорости вращения качалки – (160 ± 20) об./мин, времени культивирования – 48 часов, объем заполнения колбы- 35-40%.

Качество посевного биоматериала является важным параметром успеха суспензионного глубинного культивирования штаммов *R. Oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS, как при раздельном так и при смешанном их глубинном культивировании.

При оценке качества посевного материала использовали и контролировали следующие параметры микробиологического контроля:

- определение чистоты расплодки – контаминация не допускается;
- типоспецифичность роста на селективных питательных средах (оценка морфологии используемых культур на среде "мясо-сусловый агар" и среде "глюкозо-аспарагиновый агар");
- определение концентрации посевного материала (титр жизнеспособных клеток, не менее КОЕ/мл);
- определение азотфиксирующих свойств штамма *R. oxytoca*15MS;
- определение фосфатмобилизирующих свойств штамма *S. plymuthica* 35MS.

Культивирование ризобактерий в опытно-промышленных условиях. Раздельное глубинное культивирование продуцентов комплексного биоудобрения проводили в биоферментерах объемом 120 и 630 л при следующих условиях: среда культивирования – Эшби с мелассой, объем инокулюма – от 5 до 15% объема среды, интенсивность аэрации – 1,0-1,5 л воздуха/л среды/мин, скорость вращения мешалки – 180-220 и 120-160 об/мин, соответственно, температура- $+(29 \pm 0,5)^0$ С, исходный рН среды – 6,5–7,0, оптимальное поддержание рН - на уровне 6,7-7,0 единиц; количество растворенного кислорода -DO2 – 12-18%; контроль пенообразования – не более 4-6 см (PID коррекция); режим коррекции- рН и DO в ручном и PID параметрах. Длительность культивирования – 48 часов. При обильном пенообразовании вносится пеногаситель пропинол Б-400. В процессе культивирования через каждые 12 часов стерильно отбирали пробы для определения титра жизнеспособных клеток бактерий и контроля контаминирующей микрофлоры (таблица 1).

Таблица 1 – Численность продуцентов при раздельном глубинном культивировании *Raoultella oxytoca*15MS и *Serratia plymuthica* 35MS в биоферментере объемом 120 л

| Время культивирования, ч | Титр жизнеспособных клеток, КОЕ/мл | | | |
|--------------------------|--|--------------|---|--------------|
| | <i>R. oxytoca</i> 15MS (АФК комплексного биоудобрения) | | <i>S. plymuthica</i> 35MS (ФМК комплексного биоудобрения) | |
| | продуцент | контаминация | продуцент | контаминация |
| 0 | $(8,36 \pm 0,34) \times 10^7$ | отсутствуют | $(4,10 \pm 0,47) \times 10^7$ | отсутствуют |
| 12 | $(3,85 \pm 0,51) \times 10^8$ | | $(1,53 \pm 0,13) \times 10^8$ | |
| 24 | $(1,32 \pm 0,23) \times 10^9$ | | $(1,90 \pm 0,25) \times 10^9$ | |
| 36 | $(4,01 \pm 0,48) \times 10^9$ | | $(4,46 \pm 0,70) \times 10^9$ | |
| 48 | $(7,31 \pm 0,34) \times 10^9$ | | $(6,55 \pm 0,39) \times 10^9$ | |

Высокие титры продуцентов получены через 48 часов культивирования, их значения составили 7,31млрд (*Raoultella oxytoca* 15MS) и 6,5 млрд КОЕ/мл (*Serratia plymuthica* 35MS) при культивировании в ферментере объемом 120 л. Активность производственных штаммов в ферментере объемом 630 л через 48 часов культивирования составила 5,89 и $4,63 \times 10^9$ КОЕ/мл соответственно.

Нами установлен нижний предел титра жизнеспособных клеток ассоциативного diaзотрофа *R. oxytoca* 15MS в АФК не менее 4,1 млрд КОЕ/мл, фосфатмобилизующего гетеротрофа *S. plymuthica* 35MS в ФМК – не менее 4,2 млрд КОЕ/мл. Содержание контаминирующей микрофлоры – не выше $1,0 \cdot 10^4$ КОЕ/мл.

Нами было проведено усовершенствование параметров суспензионного пилотного глубинного культивирования фосфатмобилизующего штамма *Serratia plymuthica* 35MS. В результате проведенных работ была подобрана оптимальная схема загрузки пилотного биоферментера и параметры культивирования микроорганизмов в режиме продленного непрерывного культивирования с подпиткой и последующим масштабированием процесса в этом же биоферментере. Рациональный объем предзагрузки емкости составляет 20-25 литров

с количеством посевного материала 2,5-3,5 литра. В процессе роста культуры объем ростовой питательной среды доводится до 30-35 литров в течение 24-36 часов, а через 24-36 часов проводится кратное увеличение до 95-100 литров и продолжается до 36-48 часов. Необходимость корректировки посевного биоматериала до 12-15% связана с менее интенсивным ростом культуры *S. plymuthica* 35MS.

Применение в производственном цикле непрерывной продленной методики глубинного суспензионного накопления позволит сократить время культивирования в колбах-качалках, снизить объем гетерогенной расплодки и риски ее контаминации, позволит получать чистую однородную расплодку в достаточном количестве, с поддержанием оптимальных параметров роста культуры.

АФК и ФМК комплексного биоудобрения, полученные при отдельном культивировании бактерий, смешивали в соотношении 1:1. Для этого АФК и ФМК стерильным воздухом перекачивали из ферментеров в стерильный накопительный реактор для готового жидкого комплексного биоудобрения. После составления серии препарата и тщательного перемешивания с одновременным охлаждением продукта проводили фасовку через дозирующее устройство с соблюдением правил асептики в ПЭТ-бутылки емкостью 10, 20 и 30 дм³.

Оценка комплексного биоудобрения. Комплексное жидкое биологическое удобрение на основе фосфатмобилизирующих и азотфиксирующих бактерий должно соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице 2.

Таблица 2 – Основные показатели комплексного жидкого биоудобрения

| Наименование показателя | Характеристика и значение |
|---|---------------------------|
| Внешний вид | жидкость |
| Запах | специфический |
| Цвет | светло-коричневый |
| Титр жизнеспособных клеток <i>R. oxytoca</i> 15MS, КОЕ/мл, не менее | $4,1 \cdot 10^9$ |
| Титр жизнеспособных клеток <i>S. plymuthica</i> 35MS, КОЕ/мл, не менее | $4,2 \cdot 10^9$ |
| Общий титр жизнеспособных клеток <i>R. oxytoca</i> 15MS и <i>S. plymuthica</i> 35MS, КОЕ/мл, не менее | $4,3 \cdot 10^9$ |
| Количество контаминирующих микроорганизмов, КОЕ/мл, не более | $1,0 \cdot 10^4$ |

Сконструированное нами комплексное жидкое биологическое удобрение соответствует нормам и характеристикам, заявленным в таблице 2, а по показателям биологической активности (титр клеток) превосходит минимальные значения.

На рисунке 2 представлена типоспецифичность роста *R. oxytoca*15MS и *S. plymuthica* 35MS на селективных питательных средах.

Штамм *R. oxytoca* 15MS – грамотрицательный факультативный анаэроб. На плотной питательной среде "мясо-сусловый агар (МСА)" форма колоний округлая, поверхность гладкая, цвет бежевый, размеры крупные (диаметр более 4 мм). Морфологические признаки штамма (фазово-контрастная микроскопия): клетки имеют палочковидную форму, размеры 0,5–0,6 x 1,2–1,5 мкм, неподвижны, окружены капсулой.

Штамм *S. plymuthica* 35MS – грамотрицательный факультативный анаэроб. Морфология колоний на МСА: на 2–3 сутки роста кремовые, слизистые, непрозрачные, блестящие, выпуклые, край колоний ровный. Морфология клетки (фазово-контрастная микроскопия): прямые палочки, диаметр 0,5–0,8 x 0,9–2,0 мкм.

*Определение азотфиксирующих свойств штамма *R. oxytoca* 15MS проводили в ПЦР.* Для получения ПЦР-фрагмента гена *nifH* использованы праймеры *nifH*-1F и *nifH*-1R. Продукты ПЦР анализировали с помощью гель-электрофореза – рисунок 3.

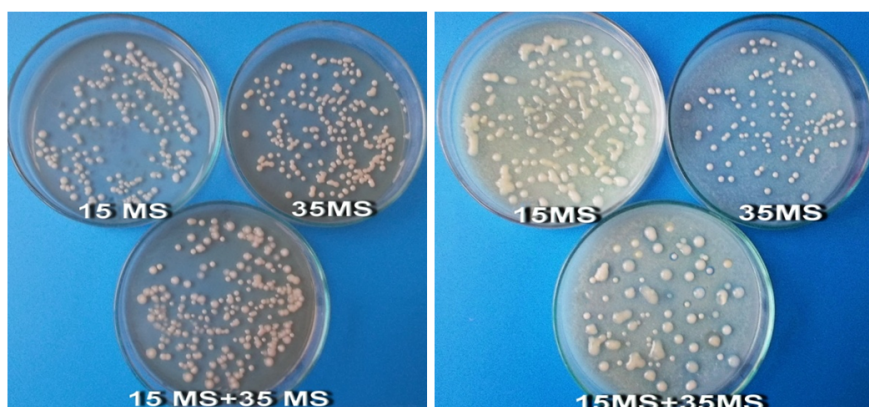


Рисунок 2 – Типоспецифичность роста *R. oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS на селективных средах среда МСА (слева), ГАА (справа), разведение 10^{-6}

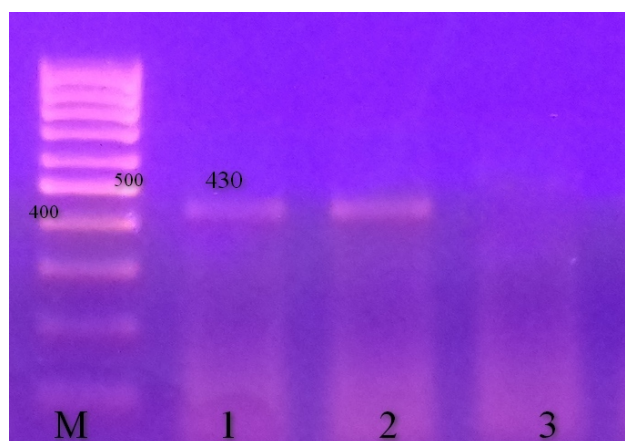


Рисунок 3 – М – маркер молекулярной массы ДНК (100 bp), 1 – *Rhanelleaquatilis* БИМ В-704Д (положительный контроль); 2 – *Raoultella oxytoca* 15MS; 3 – *E. coli* XL-Blue (отрицательный контроль)

Амплификация участка гена с использованием праймеров nifH-1F и nifH-1R показала, что специфический ПЦР-продукт размером ~ 430 п.о. есть у штамма *Raoultella oxytoca* 15MS, а у контрольного штамма *E. coli* XL-Blue – отсутствует. Исходя, из полученных данных, можно утверждать, что проверяемый штамм *Raoultella oxytoca* 15MS является азотфиксатором.

Определение фосфатмобилизирующих свойств штамма S. plymuthica 35MS. Изучение свойств фосфатрастворяющих бактерий проводили чашечным методом на агаризованной среде, предложенной Муромцевым. Метод основан на образовании зон «гало» вокруг колоний микроорганизмов, колонии которых образовывали зоны окисления при растворении фосфатов кальция – их считали фосфатмобилизирующими – рисунок 4.

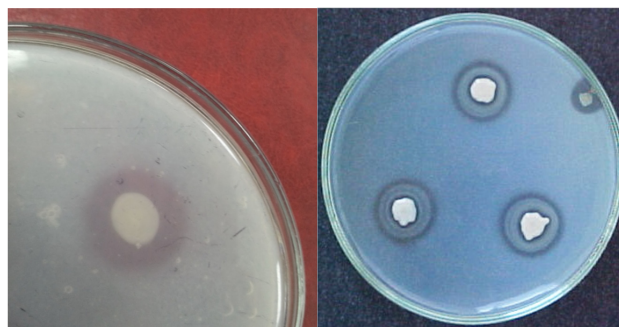


Рисунок 4 – Растворение фосфатов кальция (слева), железа (справа) в виде зоны «гало» (просветление агара) вокруг колоний штамма *S. plymuthica* 35MS

Диаметр зон «гало» вокруг колоний изолятов *S. plymuthica* 35MS достигал 3–10 мм. При этом изолят 35MS растворял фосфат кальция наиболее активно (8,2–10,5 мм), чем другие изучаемые нами штаммы (3,0–5 мм).

Таким образом, установлено, что чистая культура изолята 35MS солибилизовала труднорастворимые фосфаты кальция и железа, что подтверждает активные фосфатмобилизующие свойства штамма *S. plymuthica* 35MS.

Оценка стабильности препарата. Важным критерием эффективного использования микробных препаратов и биоудобрений является выживаемость их компонентов при хранении. Динамика выживаемости бактерий – компонентов комплексного биоудобрения жидкого в течение 6-ти месяцев хранения в холодном помещении при температуре $+(4-8)^{\circ}\text{C}$ представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Выживаемость *R. oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS в составе комплексного биоудобрения жидкого (хранение при $t + 4-8^{\circ}\text{C}$)

| Длительность хранения, мес. | Титр жизнеспособных клеток, КОЕ/мл | | |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------|--|
| | <i>R. oxytoca</i> 15MS | <i>S. plymuthica</i> 35MS | <i>R. oxytoca</i> 15MS + <i>S. plymuthica</i> 35MS |
| 0 | $(5,22 \pm 0,18) \cdot 10^9$ | $(4,84 \pm 0,39) \cdot 10^9$ | $(4,85 \pm 0,27) \cdot 10^9$ |
| 1 | $(2,86 \pm 0,05) \cdot 10^9$ | $(2,30 \pm 0,12) \cdot 10^9$ | $(2,75 \pm 0,14) \cdot 10^9$ |
| 3 | $(4,75 \pm 0,21) \cdot 10^8$ | $(4,10 \pm 0,17) \cdot 10^8$ | $(5,60 \pm 0,15) \cdot 10^8$ |
| 6 | $(2,80 \pm 0,69) \cdot 10^7$ | $(2,20 \pm 0,81) \cdot 10^7$ | $(3,60 \pm 0,37) \cdot 10^7$ |

Как следует из приведенных в таблице данных, в течение 30 суток хранения комплексного биоудобрения жидкого при пониженной температуре общий титр продуцентов в нем снизился в 1,76 раза (в монокультуре *R. oxytoca* 15MS – в 1,8, *S. plymuthica* 35MS – в 2,1 раза). Спустя три месяца хранения численность продуцентов в монокультуре и общая численность *R. oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS в комплексном биоудобрении жидком снизилась в среднем на 1 порядок и составила 4750, 410 и 560 млн КОЕ/мл соответственно. Через полгода хранения титр энтеробактерий остается на уровне экологически значимой величины (от 22,0 до 36,0 млн КОЕ/мл). Контаминирующая микрофлора в препарате, хранившемся при пониженной температуре, не обнаруживалась.

Полученные данные свидетельствуют о высоком биотехнологическом потенциале *R. oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS в плане их выживаемости, что позволяет использовать комплексное биоудобрение жидкое по назначению после его хранения в течение 3 месяцев при низкой температуре.

Закключение.

1. Подобрана питательная среда Эшби с мелассой для культивирования штаммов *Raoultella oxytoca* 15MS и *Serratia plymuthica* 35MS в лабораторных и производственных условиях, которая позволяет накапливать не менее $4,1 \times 10^9$ КОЕ/мл каждого штамма.
2. Отработаны оптимальные параметры глубинного суспензионного культивирования производственных штаммов *Raoultella oxytoca* 15MS и *Serratia plymuthica* 35MS и технология их масштабирования и составления.
3. Проведена оценка комплексного биоудобрения по физико-химическим и биологическим показателям, изучены морфологические признаки используемых штаммов и

- типоспецифичность роста *R. Oxytoca* 15MS и *S. plymuthica* 35MS на селективных питательных средах "мясо-сусловый агар" агар и "глюкозо-аспарагиновый агар".
4. Изучены азотфиксирующие свойства штамма *R. oxytoca* 15MS методом в ПЦР по ПЦР-фрагменту гена *nifH*. Проведено определение фосфатмобилизирующих свойств штамма *S. plymuthica* 35MS на селективной питательной среде с выявлением зон «галло» вокруг колоний изолятов *S. plymuthica* 35MS.
 5. Изучена стабильность показателей биоудобрения при хранении в течение 1-6 месяцев. Через полгода хранения титр энтеробактерий остается на уровне экологически значимой величины (от 22,0 до 36,0 млн КОЕ/мл). Полученные данные о выживаемости бактерий свидетельствуют об оптимальном сроке хранения биоудобрения в течение 3 месяцев при низкой температуре.
 6. Сконструированные образцы комбинированного биологического удобрения для повышения плодородия почв на основе фосфатмобилизирующих и азотфиксирующих бактерий будут испытаны в лабораторных и полевых условиях на различных сельскохозяйственных культурах при различных схемах применения и обработки.

Список литературы

- 1 Терещенко Н.Н. Биоудобрение на основе микроорганизмов: учебное пособие. -Томск.: Томский государственный университет, 2003. –60 с.
- 2 Сытников Д.М. Биотехнология микроорганизмов азотфиксаторов и перспективы применения препаратов на их основе// Биотехнология. -2012. -Т. 5. -№ 4. -С. 34-45.
- 3 Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. -М.: Наука, 1994. 168 с.
- 4 Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы // Сорос. образоват. журн. -1998. -№ 9. -С. 28-33.
- 5 Пацко Е.В., Воробей Н.А., Паршикова Т.В., Коць С.Я. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений// Бюл. Моск. общ. исп. прир. - Москва, 2009. -Т. 114, вып. 2. -С. 84-86 .
- 6 Злотников А.К., Алёхин В.Т., Андрианов, А.Д. Биопрепарат Альбит для повышения урожая и защиты растений: опыты, рекомендации, результаты применения. - М.: ООО Издательство "Альбит" , 2008. - 248 с.
- 7 Швартау В.В., Гуляев Б.И., Карлова А.Б. Особенности реакции растений на дефицит фосфора // Физиология и биохимия культурных растений -2009. -Т. 41. -№ 3. -С. 208-212.
- 8 Park J., Bolan N., Mallavarapu M. Enhancing the solubility of insoluble phosphorus compounds by phosphate solubilizing bacteria // 19-th World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia, 2010. - Brisbane, 2010. -P.65-68.
- 9 Strom P.F. Effect of Temperature on Bacterial Species Diversity in Thermophilic Solid-Waste Composting // Applied and Environmental Microbiology. –1985. –Т. 50. –№4. –Р. 899-905.
- 10 Strom P.F. Identification of Thermophilic Bacteria in Solid-Waste Composting // Applied and Environmental Microbiology. –1985. –Т. 50. –№4. –Р. 906-913.

В.А. Бабак, Е.Ж. Жакупов, И.А. Пунтус, А.К. Мухамеджанов, Б. Ергазы, А.Г.Мертасов

«BIOTRON Progress» Жауапкершілігі шектеулі серіктестігі, Степногорск, Қазақстан

Азотфиксациялайтын және фосфатмобилизациялайтын бактериялар негізінде биологиялық тыңайтқыштарды құрастыру

Аннотация. Мақалада *Raoultella oxytoca* 15MS және *Serratia plymuthica* 35MS штамдарын терең суспензиялық өсірудің оңтайлы параметрлерінің сипаттамасы, оларды масштабтау технологиясы келтірілген. ПЦР әдісімен *R. oxytoca* 15MS штаммының азотфиксациялаушы қасиеттері зерттелді және селективті қоректік ортада *S. plymuthica* 35MS штаммының фосфатмобилизациялаушы қасиеттері анықталды. Физикалық-химиялық және биологиялық көрсеткіштер бойынша биотыңайтқышқа баға берілді, оның тұрақтылығы зерттелді (энтеробактерияның титрі 6 айдан кейін экологиялық маңызды шама деңгейінде қалады (22,0-ден 36,0 млн КОЕ/мл-ге дейін).

Түйін сөздер. ризобактериялар, азотфиксациялаушы бактериялар, фосфат мобилизациялайтын бактериялар, биологиялық тыңайтқыш, құнарлылық, топырақ, өсіру.

V. A. Babak, E. Zh. Zhakupov, I. A. Puntus, A. K. Mukhamedzhanov, B. Ergazy, A.G. Mertassov

«BIOTRON Progress» Limited liability company, Stepnogorsk, Kazakhstan

Construction of biological fertilizer based on nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria

Abstract. The article describes the optimal parameters of deep suspension cultivation of *Raoultella oxytoca* 15MS and *Serratia plymuthica* 35MS strains, and their scaling technology. The nitrogen-fixing properties of the *Raoultella oxytoca* 15MS strain were studied by PCR and the phosphate-stabilizing properties of the *S. plymuthica* 35MS strain were determined on a selective nutrient medium.

The assessment of biofertilizer by physical, chemical and biological parameters was given, its stability was studied (the titer of enterobacteria after 6 months of storage remains at the level of an environmentally significant value (from 22.0 to 36.0 million CFU/ml).

Keywords. rhizobacteria, nitrogen-fixing bacteria, phosphate-mobilizing bacteria, biological fertilizer, fertility, soil, cultivation.

References

- 1 Tereshhenko N.N. Bioudobrenie na osnove mikroorganizmov [Bio-fertilizer based on micro-organisms]. Textbook (Tomsk state University, Tomsk, 2003, 60 p.).[in Russian].
- 2 Sytnikov D.M. Biotehnologija mikroorganizmov azotfiksatorov i perspektivy primeneniya preparatov na ih osnove [Biotechnology of nitrogen fixing microorganisms and prospects for the use of drugs based on them], Biotehnologija [Biotechnology] , 5(4), 34-45(2012).
- 3 Kretovich V.L. Biohimija usvoeniya azota vozduha rastenijami [Biochemistry of air nitrogen assimilation by plants] (Nauka, Moscow, 1994, 168 p.).[in Russian].
- 4 Ignatov V.V. Biologicheskaja fiksacija azota i azotfiksatory [Biological nitrogen fixation and nitrogen-fixing bacteria], Soros. obrazovat. zhurn. [Soros. educated. journal], (9), 28-33 (1998).
- 5 Packo E.V., Vorobej N.A., Parshikova T.V., Koc' S.Ja. Perspektivnost' ispol'zovaniya asociacij azotfiksirujushih mikroorganizmov dlja povysheniya urozhajnosti rastenij [Prospects for using associations of nitrogen-fixing microorganisms to increase plant productivity]. Bjul. Mosk. obshh. isp. prir. [Bulletin of the Moscow society of nature testers. Department of biology], Volume 14. Issue 2. P.84-86.
- 6 Zlotnikov A.K., Aljohin V.T., Andrianov, A.D. Biopreparat Al'bit dlja povysheniya urozhaja i zashhity rastenij: opyty, rekomendacii, rezul'taty primeneniya [Biopreparation Albit for yield increase and plant protection: experiences, recommendations, results of application] (Izdatel'stvo Agrorus, Moscow, 2008, 248 p.).
- 7 Shvartau V.V., Guljaev B.I., Karlova A.B. Osobennosti reakcii rastenij na deficit fosfora [Features of plants' reaction to phosphorus deficiency], Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij [Physiology and biochemistry of cultivated plants], 3(41), 208-212(2009).
- 8 Park J., Bolan, N., Mallavarapu, M. Enhancing the solubility of insoluble phosphorus compounds by phosphate solubilizing bacteria. 19-th World Congress of Soil Science (Brisbane, Australia, 2010, P. 65-68).
- 9 Strom P.F. Effect of Temperature on Bacterial Species Diversity in Thermophilic Solid-Waste Composting, Applied and Environmental Microbiology, 50(4), 899-905(1985).
- 10 Strom P.F. Identification of Thermophilic Bacteria in Solid-Waste Composting, Applied and Environmental Microbiology, 50(4), 906-913(1985).

Сведения об авторах:

Бабак В.А. - кандидат ветеринарных наук, инженер-технолог, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Жакупов Е.Ж. - руководитель проекта, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Пунтус И.А. - исследователь, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Мухамеджанов А.К. - инженер-технолог, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Ергазы Б. - исследователь, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Мертасов А.Г. - исследователь, ТОО "BIOTRON Progress", Промышленная зона 4, комплекс 7, Степногорск, Казахстан.

Babak V. A. - PhD in Veterinary Science, engineer-technologist, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Zhakupov E. Zh. - project manager, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Puntus I. A. - researcher, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Mukhamedzhanov A. K. - engineer-technologist, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Ergazy B. - researcher, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Mertassov A. G. - researcher, «BIOTRON Progress» LLT, Industrial zone 4, complex 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 04.02.2020

Б.Р. Қали^{1,2}, Л.С. Абеуова^{1,2}, А.Ө. Рахимжанова¹, Ш.А. Манабаева^{1,2}

¹ ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы» ШЖҚ РМК, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

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

(E-mail: manabayeva@biocenter.kz)

Картоп өсіндісі жасушаларының морфогенетикалық үрдістер ерекшеліктері

Аннотация: Регенерация үрдісін жоғарылату үшін *in vitro* жағдайында өсу реттегіштерінің оңтайлы комбинациясын таңдаудың маңызы зор. Мақалада зерттеу нысаны ретінде отандық картоптың екі сұрыпы алынды: Астаналық және Памятник Кунаева. Аталған сұрыптар *in vitro* жағдайында каллус түзу және регенерация қабілеті бойынша ерекшеленді. Зерттеу нәтижесінде, құрамында 10 мг/л гиббереллин, 1,0 мг/л транс-зеатин және 0,1 мг/л индолил сіркесу қышқылы қосылған қоректік орта тікелей регенерация үшін тиімді екендігі анықталды. Зерттелген сұрыптардың сабақ экспланттарынан каллус түзу қабілеттілігі құрамы 0,5 мг/л кинетин және 2,0 мг/л 2,4-Д бар және 2,0 мг/л кинетин және 1,0 мг/л 2,4-Д болатын МС қоректік орталарда 100% көрсеткішке ие болды. Сабақ экспланттарынан каллус түзілу жиілігі құрамында 0,5 мг/л БАП және 2,0 мг/л 2,4-Д бар МС қоректік ортада Памятник Кунаева мен Астаналық сұрыптары үшін сәйкесінше 68,0% және 43,0% көрсетті. Картоп түйнегінің түзілуіне құрамында 0,5 мг/л кинетин және 1,0 мг/л аскорбин қышқылы бар МС қоректік орта оңтайлы болды. Зерттеу нәтижесінде, Астаналық сұрыпының *in vitro* жағдайында жоғары регенерациялық қабілетілігі, микротүйнектер түзілуге арналған қоректік ортаның нұсқасы анықталды.

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

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-23-30>

Кіріспе. Картоп – азықтық мақсатта өсірілетін кең қолданыстағы ауыл шаруашылық дақылы. Картоп түйнегі құрамын 22% крахмал, 2% ақуыз, 1% қант және С, В1, В2, В6 дәрумендері қамтиды. Қазіргі таңда оқшауланған жасушалар мен ұлпаларды өсіру әдістерін қолдану – картопты генетикалық түрде жетілдіруде кеңінен қолданылады.

Биотехнологияның заманауи әдістерін пайдалану арқылы картоптың өнімділігін жоғарылату тиімді екені белгілі [1]. *In vitro* жағдайында картоп өсіндісінен жоғары нәтиже алу үшін өсудің тиімді реттегіштерін таңдау негізгі міндеттердің бірі болып саналады. Мәдени өсімдіктердің ішінде, картоп генетикалық бай ресурстарының болуымен және құнды белгілерінің жеңіл тұқым қуалауымен ерекшеленеді. Картоп өнімділігінің қарқындылығы өте жоғары. Картоп дақылының түйнектері спирт, крахмал-сірне және каучук өңдеу өнеркәсібі үшін шикізат болып табылады [2, 3,6].

In vitro жағдайында микроклоналды көбейту, каллус түзілу және морфогенездің молекулалық және жасушалық негіздерін зерттеу жоғары сатыдағы өсімдіктердің онтогенезінің заңдылықтарын түсіну үшін ғана емес, сонымен қатар өсімдіктердің клеткалық және гендік инженерия әдістерін табысты дамыту үшін де маңызды. Генетикалық тұрғыда өзгерген жасушадан пайда болған белгілерді ұрпағына беруге қабілетті өсімдік алу – жоғары өнімді және өнім сапасы бар абиотикалық стресс және патогендерге төзімділік белгілерін үйлестіретін өсімдіктердің жаңа нысандарын жасауға бағытталған жасушалық және гендік инженерия көмегімен мол табысқа жетуі мүмкін. Картоптың селекциялық үрдісін ұлпа өсіндісі әдістерінің көмегімен басқару, міндетті түрде микроклоналды көбеюін, индукция шарттарын және өсімдіктер ұлпаларының мамандануының үрдістерін қамтамасыз етуді көздейді.

Картоптың *in vitro* жағдайында регенерация үрдісі оның генотипіне тікелей тәуелді екені белгілі [4]. Картоп дақылын жетілдіруде *in vitro* жағдайында әртүрлі генотиптерді енгізу, өсімдіктерді аурулардан сауықтыру, микрокөбейту, орта мерзімді және ұзақ мерзімді криосақтау әдістерін қолдану кеңінен қолданылады [5].

Картоптың оқшауланған ұлпа өсіндісінде фитогормондар жасушаларды дифференциялау және жасушаның көбею процесін индукциялау үшін қажет. Өсу реттегіштерінің үш түрі бар, олар – ауксиндер, цитокининдер және гиббереллиндер. Тікелей және тікелей емес регенерация үшін қоректік орта құрамында цитокининдер мен ауксиндердің болуы өте маңызды. Транс-зеатин жақсы дамыған өскіндердің қалыптасуы, гиббереллин – жасуша бөлінуін белсендіру, кинетин – жасуша бөліну промоторы және өсуді реттеу, 2,4 D – каллус ұлпасының өсуін ынталандыру, БАП – жасушаның көбею үрдістері үшін қажет.

Онтогенездің әртүрлі кезеңдерінде өсімдіктерде түйнектің пайда болуы өсімдіктің морфологиялық, физиологиялық және биохимиялық өзгерістері нәтижесінде қалыптасатыны анық. Түйнектің пайда болу сатылары: түйін индукциясы және инициациясы, түйіндердің өсуі және оның бұтақтануы, жетілуі болып табылады [6].

Бұл процестердің негізгі шарттарының бірі – көмірсулар және гормоналдық факторлар, олар фотопериодты реакцияларға, биохимиялық процестер кешеніне әсер етеді. Түйнек түзілу алдында фотосинтетикалық белсенділіктің жоғарылауы, сабақтарда ассимиляттар қорының жинақталуы және түйнек түзілу бағытында көмірсулардың қарқынды тасымалдануы байқалады [7].

Картоп өсіндісін алуда экспланттың маңызы зор. Бұл жұмыстың және жапырақ экспланттарынан регенерант өсімдігін алу. Зерттеу нәтижеміздің оңтайлы болуы жаңа технологияны, атап айтқанда, генді редакциялауға бағытталған жұмыстарымыздың табысты болуына мақсаты – отандық картоп сұрыптарының морфогенетикалық потенциалын зерттеу және *in vitro* жағдайында картоптың сабақ көмектеседі.

Зерттеу материалдары және әдістері. Зерттеу нысаны ретінде отандық картоптың екі сұрыпы алынды: Астаналық және Памятник Кунаева. Картоп сұрыптарының жапырақ және сабақ экспланттары қолданылды. Зерттелетін сұрыптар *in vitro* жағдайында каллус түзу және регенерация қабілеті бойынша бағаланды. Бұл жұмыстарды жүзеге асыруда реттегіштердің әсері зерттелді.

Картоп экспланттары пробиркалы өсімдіктердің микроклондарының сабағынан 7-8 мм және жапырағынан 5x5 мм мөлшерінде дайындалды. Тікелей және тікелей емес регенерация үшін картоп экспланттары құрамында әртүрлі қанықпалы фитогормондар (гиббереллин, транс-зеатин, индолил сіркесу қышқылы, кинетин, бензиламинопуридин (БАП), нафтил сіркесу қышқылы және 2,4-D), көмірсу көзі ретінде сахарозасы бар Мурасиге – Скуг (МС) қоректік орта қолданылды.

Картоптың вегетативтік мүшелері үшін индолил-3-сірке қышқылы (ИУК), α -нафтил-1-сірке қышқылы (НУК), цитокининдер, мысалы, кинетин, БАП, зеатин және гиббереллин қышқылы әртүрлі қанықпасында пайдаланылды. Көмірсулардың көзі ретінде құрамы 20 және 30 г/л мөлшерде болатын сахароза қолданылды.

Қоректік орта белгілі әдістерге сай 40 минут 121°C температурада залалсыздандырылды. Қоректік ортаның рН көрсеткіші 1М NaOH көмегімен 5,6 – 5,8 мөлшеріне дейін жеткізілді. Өсу реттегіштері мен дәрумендер диаметрі 0,22 мкм болатын сүзгіш көмегімен зарарсыздандырылып, суыған қоректік ортаға қосылды. Картоп экспланттары құрамында фитогелі бар МС қоректік ортада Петри табақшасында өсірілді. Экспланттар $26-28^{\circ}\text{C}$ температурада және 16 сағаттық фотопериод жарықта өсірілді.

Тікелей регенерация үшін МС қоректік ортаның 5 нұсқасы дайындалды (кесте 1). Картоп өсінділері екі апта сайын жаңа қоректік ортаға көшіріліп отырды.

1-кесте. Картоптың Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптары үшін тікелей регенерациялауға арналған қоректік ортаның нұсқалары

| Гормондар | МС дәрумен = 4.4 г/л Сахароза 20 г/л | | | | |
|--------------|---|------------|-------------|------------|-----------|
| | I мг/л | II мг/л | III мг/л | IV мг/л | V мг/л |
| ГАЗ | 1,0 | 3,0 | 5,0 | 7,0 | 10,0 |
| Транс-зеатин | | 2,0 | 0,5 | 1,0 | 1,0 |
| БАП | 2,0 | 1,0 | | | |
| ИУК | | | 0,1 | 0,2 | 0,1 |

Тікелей емес регенерация үрдісі үшін каллус ұлпалары МС қоректік ортаның 5 нұсқасында өсірілді (2 кесте). Картоп өсінділері 1 ай сайын жаңа қоректік ортаға көшірілді.

2-кесте. Картоптың Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптарының каллусогенез үрдісіне арналған қоректік ортаның нұсқалары

| Гормондар | МС дәрумен = 4.4 г/л Сахароза 30 г/л | | | | |
|-----------|---|------------|-------------|------------|-----------|
| | I мг/л | II мг/л | III мг/л | IV мг/л | V мг/л |
| 2,4-Д | 1,0 | 1,0 | 2,0 | 2,0 | 3,0 |
| Кинетин | 2,0 | 0,5 | 0,5 | | |
| БАП | | 1,0 | | 0,5 | 1,0 |

Түйнек түзілуі үшін қоректік ортаның 2 нұсқасы алынды (3 кесте).

3-кесте. Картоптың Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптарының түйнек түзілуіне арналған қоректік ортаның нұсқалары

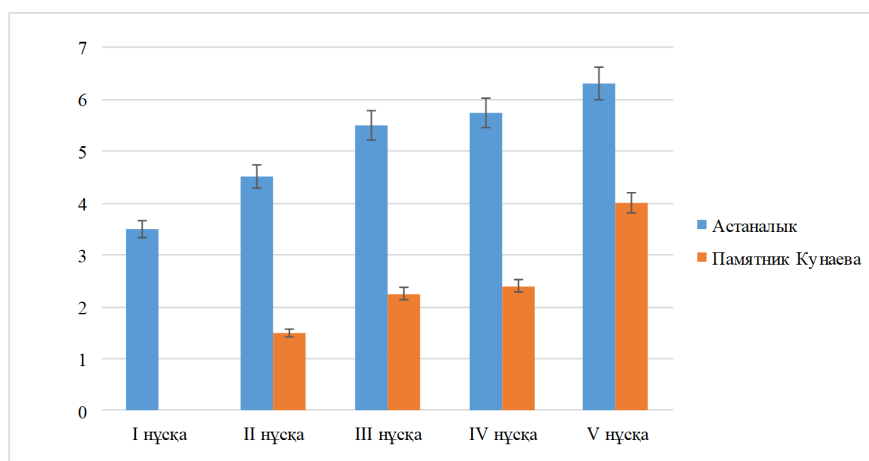
| Гормондар | МС дәрумен = 4.4 г/л Сахароза 50 г/л | |
|------------------|---|------------|
| | I мг/л | II мг/л |
| НУК | 0,5 | |
| Кинетин | 1,0 | 0,5 |
| Аскорбин қышқылы | | 1,0 |

Зерттеу нәтижелері және талдау. Тікелей регенерация

Өсірілетін ұлпалардың морфологиялық-генетикалық қабілеті эксплант алынған ортаға, оның физиологиялық жасына, мөлшеріне, анатомиялық және функционалдық ерекшеліктеріне байланысты екені белгілі [8].

Зерттеу нәтижелері бойынша, тікелей регенерация үшін құрамында гиббериллин, зеатин және ИУК фитогормоны қосылған қоректік ортаның бесінші нұсқасы ең тиімді болғаны

анықталды. Сондай-ақ, қоректік ортаның үшінші және төртінші нұсқадағы фитогормондар қанықпалары да жақсы нәтиже көрсетті. Бір экспланттан тікелей регенерация үрдісін қоздыруда қоректік ортаның нұсқасына байланысты 1-ден 12-ге дейін регенеранттар алынды. Мысалы, Астаналық сұрыпынан I нұсқада 1-ден 5-ке дейін, II нұсқада 1-ден 6-ға дейін, III нұсқада 1-ден 13-ке дейін, IV нұсқада 3-тен 16-ға дейін, V нұсқада 2-ден 18-ге дейін регенеранттар алынды. Памятник Кунаева сұрышы I нұсқада регенерант түзген жоқ, II нұсқада 1-ден 2-ге дейін, III нұсқада 1-ден 4-ке дейін, IV нұсқада 1-ден 5-ке дейін, V нұсқада 2-ден 7-ге дейін регенеранттар алынды. Бір экспланттан өскен регенеранттардың орташа саны 1-суретте көрсетілген.



СУРЕТ 1 – Бір экспланттан өскен регенеранттардың орта санының көрінісі

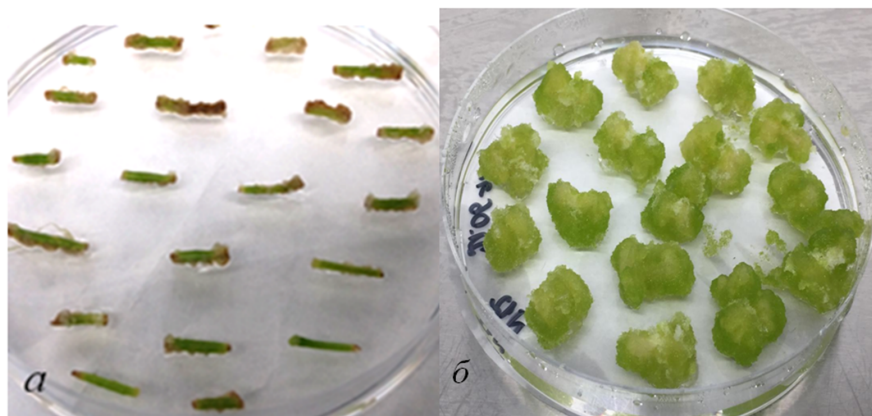
Әдебиет көздеріне сүйенсек, келесі мәліметтер алынған. Мысалы, құрамында 1,0 мг/л БАП және 0,5 мг/л ГА3 бар қоректік ортада өсудің жоғары көрсеткіші (93,33%), 1,0 мг/л БАП және 1,0 мг/л ГА3 қанықпасында 86.67%-ға ие болған, ал керісінше ең төменгі көрсеткіш (13.33%) құрамында тек 0,5 мг/л ГА3 қоректік ортасында анықталған [9]. Kufri Juoti картоп сұрышы БАП пен ГА3 комбинациясында 94,1% регенерациялық қабілетіне ие болған [10], келесі картоп сұрышы құрамында БАП 8,88 мкМ және ГА3 1,00 мкМ болған жағдайда жоғары нәтиже көрсеткен [11].

Біздің зерттеулеріміздің нәтижесінде Астаналық сұрыпының регенерациялық қабілеттілігі қоректік ортаның барлық нұсқаларында Памятник Кунаева сұрыпынан асып түскенін атап айту керек. Бір өсіндіден пайда болған регенеранттар көрінісі 2-суретте көрсетілген.



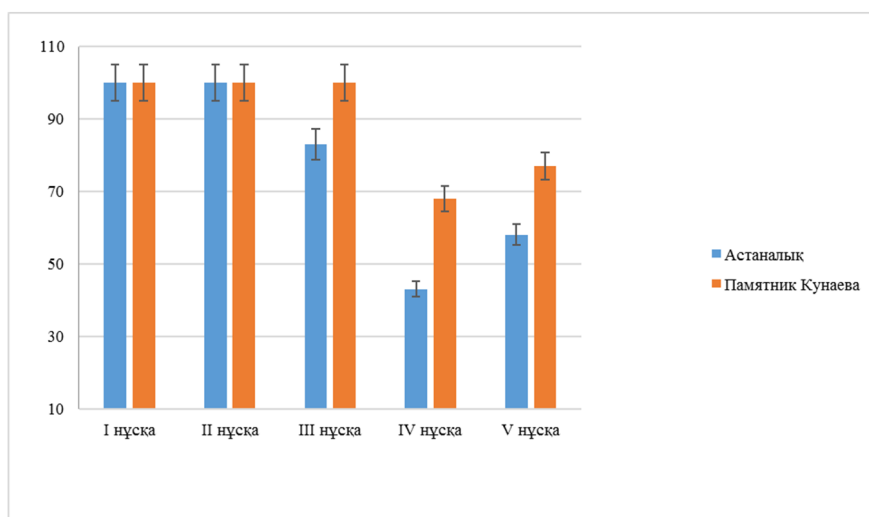
СУРЕТ 2 – Тікелей регенерация: (а – Астаналық және б – Памятник Кунаева сұрыптарының бір экспланттан шыққан регенеранттар көрінісі)

Каллусогенез. Каллус түзілу жиілігі мен сапасы каллус ұлпасы пролиферациясының 3-4 аптасынан бастап бақыланды. Каллусогенезге арналған қоректік ортада 6-8 аптадан кейін морфогенді каллус ұлпалары пайда болуы талқыланды. Осы қоректік ортаға екі рет отырғызылып, сосын регенерацияға арналған қоректік ортаға көшірілді. Экспланттардың каллус түзу қабілеті ортаның бес нұсқасында олардың айырмашылықтары бойынша іріктелді (3 сурет).



Сурет 3 – Памятник Кунаева сұрыпының каллус түзілу үрдісі: (а – 10 күн өткеннен кейінгі экспланттар; б – 8 апта өткеннен кейінгі каллустар)

2,4-Д жасушалардың дедифференциясын қоздыру үшін оңтайлы агент екені белгілі. Қоректік ортаның құрамында 2,4-Д ауксиннің өзі немесе цитокининмен бірігуі каллус индукциясын арттырады. Біздің зерттеуде 4-суретте көрсетілгендей Памятник Кунаева сұрыпының I, II, III нұсқаларында, ал Астаналық сұрыпы I және II нұсқаларында сабақ экспланттарынан каллус түзу жиілігі 100% болды.

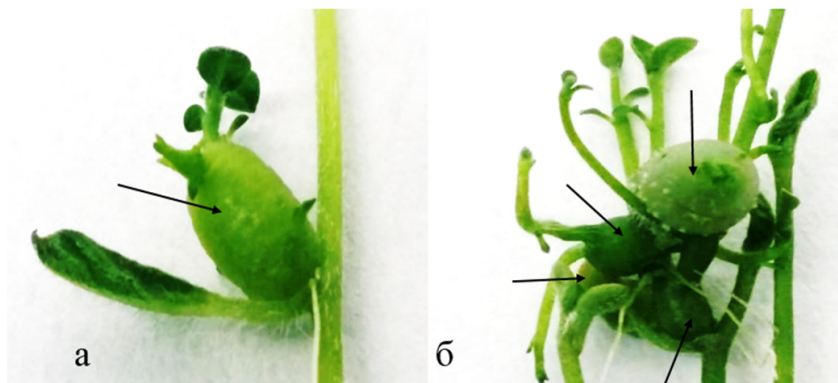


Сурет 4 – Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптарының каллус түзілу жиіліктері

Төменгі нәтиже құрамында 0,5 мг/л БАП және 2,0 мг/л 2,4-Д бар МС қоректік ортасының төртінші нұсқасында байқалды, каллус түзілу жиілігі Памятник Кунаева және Астаналық сұрыптарының сабақ экспланттарында сәйкесінше 68,0% және 43,0% көрсеткіштерге ие болды.

Картоп түйнегінің түзілуі. Кейбір әдеби деректердің зерттеу нәтижелері бойынша, картоп түйнегінің түзілу үрдісі құрамында 6% сахароза және 1 мг/л БАП бар қоректік ортада жоғары нәтиже көрсеткен [13]. Біздің зерттеуіміз бойынша, таңдалған екі сұрыптан түйнек түзілу үрдісіне МС қоректік ортаның екінші нұсқасы, яғни құрамында 50% сахароза, қанықпасы 0,5 мг/л кинетин және 1,0 мг/л аскорбин қышқылы бар қоректік орта оңтайлы әсер

көрсетті. Бір өсімдіктен шыққан түйнектердің жоғары көрсеткіші 4-ке дейін жетті. Зерттеу кезінде екінші нұсқада картоп түйнектері бір-бірден шыға бастады, содан кейін бір қолтық бүршігінен бірнеше түйнектер өсіп шықты (5 сурет).



СУРЕТ 5 – *In vitro* жағдайында Астаналық сұрышының картоп түйнектерінің қалыптасу ерекшеліктері (а – бір қолтық бүршігінен шыққан түйнек; б – бір қолтық бүршігінен шыққан бірнеше түйнектер.

Қорытынды. Картоптың Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптарының *in vitro* жағдайында морфогенетикалық ерекшеліктері зерттелді. Жүргізілген зерттеу нәтижелері бойынша, құрамында 10 мг/л гиббереллин, 1,0 мг/л транс-зеатин және 0,1 мг/л индолил сіркесу қышқылы қосылған қоректік ортаның бесінші нұсқасы тікелей регенерация үшін ең тиімді болғаны анықталды. Астаналық және Памятник Кунаева сұрыптарының сабақ экспланттарының каллус түзу қабілеттілігі 43,0% бен 100% аралығында болды. Түйнектің түзілуіне құрамында 0,5 мг/л кинетин және 1,0 мг/л аскорбин қышқылы бар МС қоректік ортаның II нұсқасы оңтайлы әсер көрсететіні анықталды.

Зерттеулерде қолданылған сұрыптардың регенерациялық қабілеті, микротүйнектер түзілу үрдістері, қоректік ортаның оңтайлы нұсқасы картоп өсіндісін жоғары деңгейге көтеруге мүмкіншілік береді, яғни картоптың басқа сұрыптары үшін де пайдалануға болады.

Әдебиеттер тізімі

- 1 Коновалова Г.И. Использование биотехнологических методов и приемов в современном семеноводстве картофеля. - М., 2006.
- 2 Кривцун Л.В., Лукин Н.Д., Дегтярев В.А. Комплексная переработка картофеля на крахмал и картофелепродукты // Картофелеводство: сб. науч. тр. Мн. – 2010. – Т.18. – С.368.
- 3 Адамова А.И., Банадысев С.А., Бобрик А.О., Коновалова Г.И., Семенова З.А. Технология производства исходного семенного материала картофеля // Научные труды БелНИИК. – 2002. – С. 187-225.
- 4 Першина Л.А. Основные методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений. –Новосибирск: Издательство "Новосибирск", 2005. –138с.
- 5 Глушкова Т. Н. Изучение нетрадиционных регуляторов роста в культуре ткани картофеля: автореф. дис. канд. биол. наук. – М., 2003. С.21-24.
- 6 Мирзохонова Г.О., Назарова Н.Н., Давлятназарова З.Б., Каримов Б.К., Алиев К.А. Гормональная регуляция инициации и роста клубней регенерантов картофеля *in vitro* // Известия АН РТ. – 2005. – № 3-4 (153). – С.45-51.
- 7 Дерябин А.Н., Юрьева Н.О. Экзогенная регуляция клубнеобразования у *Solanum tuberosum L.* в культуре *in vitro* // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 3. – С.17-25.
- 8 Деева В. П. Регуляторы роста растений: механизмы действия и использование и агротехнологиях. - Мн.:Беларус.наука, 2008. – С.133.
- 9 Umme Zohora Laboney Callus induction and regeneration of potato from shoot tip culture. // International Journal of Agricultural Sciences. – 2013. – Vol.3(10). – P40-45.
- 10 Tara S.R., Krishnaprasad B.T., Anil. V.S. Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti // Journal of Biotechnology and Biochemistry. – 2017. – Vol.3, №4. – P.31-34.
- 11 Dhaka M., Nailwal T. K. High efficiency macropropagation of potato (*Solanum tuberosum L.*) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills. // J. Plant Breed. Crop Sci. –2015 – №7. – P.203-210.
- 12 Писецкая Н. Ф., Рудцова В. Р., Лауве Л. С. *In vitro* клубнеобразование у растений разных сортов картофеля // Biotechnology & Bioindustry. – 2014. – Vol.1(6). – P.9-11.

Б. Р. Қали^{1,2}, Л. С. Абеуова^{1,2}, А.О. Рахимжанова¹, Ш. А. Манабаева^{1,2}

¹ Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Нур-Султан, Казахстан

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

Особенности морфогенетических процессов культуры клеток картофеля

Аннотация. Важность выбора правильной комбинации регуляторов роста для усиления процесса регенерации *in vitro* хорошо известны. Объектом исследования являются два сорта картофеля отечественной селекции: Астаналык и Памятник Кунаева. Исследованные сорта отличались по каллусообразованию и способности к регенерации в условиях *in vitro*. По результатам экспериментов, питательная среда, содержащая 10 мг/л гиббереллина, 1,0 мг/л транс-зеатина и 0,1 мг/л индолилуксусной кислоты была наиболее эффективной для прямой регенерации. Способность к каллусообразованию у стеблевых эксплантов составила 100% у обоих сортов, где питательная среда содержала 0,5 мг/л кинетина и 2,0 мг/л 2,4-Д, и 2,0 мг/л кинетина с 1,0 мг/л 2,4-Д. Выявлена частота каллусообразования у стеблевых эксплантов на среде, содержащей 0,5 мг/л БАП и 2,0 мг/л 2,4-Д для сорта Памятник Кунаева и Астаналык составила 68,0% и 43,0% соответственно. Выявлено, что оптимальной средой для формирования микроклубней является II вариант с составом 0,5 и 1,0 кинетина и аскорбиновой кислоты соответственно. По результатам исследований выявлено, что сорт Астаналык обладает высокой регенерационной способностью в культуре *in vitro*, а также определена оптимальная среда для образования микроклубней.

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

B. R. Kali^{1,2}, L. S. Abeuova^{1,2}, A. O. Rakhimzhanova¹, Sh. A. Manabaeva^{1,2}

¹ National center for biotechnology, Nur-Sultan, Kazakhstan

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

Features of morphogenetic processes of the cells of the potato

Abstract. The importance of choosing the right combination of growth regulators to enhance *in vitro* regeneration is well known. The object of the study are two varieties of potato from local breeding: Astanalayk and Kunaev Monument. The studied cultivars differed in callus formation and plant regeneration abilities *in vitro* culture. According to the results of the experiments, for direct regeneration the MS medium containing gibberellin 10 mg/L of, trans-zeatin 1.0 mg/L and indolylacetic acid 0.1 mg/L was most effective. The callus induction ability in stem explants was 100% in both varieties, where the nutrient medium contained kinetin 0.5 mg/L and 2,4-D 2.0 mg/L, or kinetin 2.0 mg/L with 2,4-D 1.0 mg/L. The callus formation frequency of stem explants on the medium containing BAP 0.5 mg/L and 2,4-D 2.0 mg/L for the cultivars Pamyatnik Kunaeva and Astanalayk was 68.0% and 43.0%, respectively. It was revealed that the optimal medium for microtuber formation was the variant II containing the composition of kinetin and ascorbic acid, 0.5 and 1.0 mg/L respectively. According to the results of studies, it was revealed that the cultivar Astanalayk has a high regenerative ability in an *in vitro* culture, as well as the optimal environment for the formation of micro-tubers.

Keywords. potatoes, direct regeneration, indirect regeneration, explant, *in vitro*, callus

References

- 1 Konovalova G. I. Ispolzovanie biotekhnologicheskikh metodov i priemov v sovremennom semenovodstve kartofelya [Using biotechnological methods and techniques in modern potato seed production] (Moscow, 2006) [in Russian].
- 2 Krivtun L. V., Lukin N. D., Degtyarev V. A. (2010). Kompleksnaya pererabotka kartofelya na krahmal i kartofeleprodukty [Complex processing of potatoes for starch and potato products], Kartofelevodstvo [Potato growing]. Collection of scientific papers, 18, 368 (2010).
- 3 Adamova A. I., Banadysev S. A., Bobrik A. O., Konovalova G. I., Semenova Z. A. (2002). Tehnologiya proizvodstva ishodnogo semennogo materiala kartofelya [Technology of production of initial seed material of potatoes]. Nauchnye trudy BelNIIC [Scientific works BelNIIC], 187-225, (2002) [in Russian].
- 4 Pershina L. A. Osnovnye metody kul'tivirovaniya *in vitro* v biotekhnologii rastenii [Basic methods of *in vitro* cultivation in plant biotechnology] (Izdatel'stvo Novosibirsk, Novosibirsk, 2005, 138 p.) [in Russian].
- 5 Glushkova T. N. Izuchenie netradicionnykh regulyatorov rosta v kul'ture tkani kartofelya [Study of non-traditional growth regulators in potato tissue culture]. Abstract. dis. cand. biol. sciences (Moscow, 2003, p.21-24) [in Russian].
- 6 Mirzokhonova G. O., Nazarova N. N., Davlyatnazarova Z. B., Karimov B. K., Aliyev K. A. Gormonal'naya regulyatsiya iniciatsii i rosta klubnei regenerantov kartofelya *in vitro* [Hormonal regulation of initiation and growth of potato regenerants tubers *in vitro*], Izvestiya AN RT [Tidings of the AS RT], 3-4 (153), 45-51 (2005). [in Russian].
- 7 Deryabin A. N., Yurieva N. O. (2010). Ekzogennaya regulyatsiya klubneobrazovaniya u *Solanum tuberosum* L. v kul'ture *in vitro* [Exogenous regulation of tuberization in *Solanum tuberosum* L. in culture *in vitro*]. Sel'skohozyaistvennaya biologiya [Agricultural biology], 3, 17-25 (2010). [in Russian].
- 8 Deeva V. P. Regulyatory rosta rastenii: mehanizmy deystviya i ispol'zovanie i agrotekhnologiyah [Plant growth Regulators: mechanisms of action and use in agricultural technologies] (Belarus.nauka, Minsk, 2008, p.133). [in Russian].
- 9 Umme Zohora Laboney. Callus induction and regeneration of potato from shoot tip culture, International Journal of Agricultural Sciences, 3 (10) 40-45, (2013).
- 10 Tara S. R., Krishnaprasad B. T., Anil. V. S. (2017). Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti, Journal of Biotechnology and Biochemistry, 4 (3), 17-25 (2010).

- 11 Dhaka M., and T. K. Nailwal. High macropropagation efficiency of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills, J. Plant Breed. Crop Sci. 7, 203-210 (2015).
- 12 Pisetskaya N. F., Rutszkova V. R., Lauve L. S. (2014). In vitro klubneobrazovanie u rastenii raznyh sortov kartofelya [In vitro tuberization in plants of different potato varieties], Biotechnology & Bioindustry, 1(6),9-11 (2014). [in Russian].

Сведения об авторах:

Қали Б.Р. - ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы» Өсімдіктердің генетикалық инженерия зертханасының лаборанты, 6M060700 Биология мамандығының 2-курс магистранты, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Абеуова Л. С. - ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы» Өсімдіктердің генетикалық инженерия зертханасының кіші ғылыми қызметкері, 6D060700 Биология мамандығының 2-курс докторанты, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Нұр-Сұлтан, Қазақстан

Рахымжанова А.Ө. - ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығының» ғылыми қызметкері, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

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

Kali B.R. - Assistant of the laboratory of Plants Genetic Engineering "National center for biotechnology", L.N. Gumilyov Eurasian National University 2nd year master's student of the specialty 6M060700 Biology, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Abeuova L.S. - Junior Researcher of the laboratory of Plants Genetic Engineering "National center for biotechnology", L.N. Gumilyov Eurasian National University 2nd year PhD student of the specialty 6D060700 Biology, Nur-Sultan, Kazakhstan.

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

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

Редакцияға 10.01.2020 қабылданды

D.S. Tokasheva, N.N. Iksat, R.T. Omarov

*L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan
(E-mail: romarov@gmail.com, dana041193@mail.ru, nuri.001@mail.ru)*

Magnesium and manganese biological role in crops diseases

Annotation: In the modern world there is a wide variety of metals utilization in a range of human activity spheres. Crops production is one of the most important fields for the Republic of Kazakhstan. Metals are used as fertilizers for better harvesting and stability of agriculture. Magnesium and manganese are examined in this article, as they are the key elements for all crops. The lack of these elements in soil, which are vital for crops, leads to chlorotic spots and stripes appearance on leaves, slow growth, decrease of disease resistance, and as a result death of crops. Thus, the data from the previous years shows involvement of the microelements described above in activation of hyper sensible response. This procedure plays a key role in molecular strategy adaptation of crops to the diseases.

Key words: magnesium, manganese, fertilizer, concentration, crop, tobacco mosaic virus

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-31-36>

Metals are vital part of the environment; they are components of vast majority of biological bonds. Thanks to studying of metals the First Industrial Revolution happened, such fields as agriculture, medicine, pharmacy started to develop fast. In modern medicine metals are used to diagnose various diseases. Metal detectors are used in pharmacy to detect metal foreign bodies in pills, powders, and capsules. Metals are widely used in agricultural fertilizers.

While using metal bonds as a nutrient element, their concentration, morphological property of soil, biological properties of the plant which is being studied must be taken into consideration. By adding one or another metal there can be positive effect on the subject being studied, but it also can lead to negative consequences, for example, plant's death or its inability to against diseases. Biological functions of magnesium and manganese, their concentration while adding in soil, and their effect on plant infectious diseases are described in this survey article.

Manganese ions affect considerably on such processes as photosynthesis, breathing, nitrogen uptake, and chlorophyll generation. One of the most important manganese functions, increase of a plant resistance to biotic factors, is not studied well enough. Having small concentrations of manganese in soil, there is high probability of getting disease, gray blight, as a result a plant dies. As a rule, there is divalent, trivalent, and quadrivalent manganese in soils. Lack of manganese brings to slow plant growth, cells are losing their springing, plant vulnerability to low temperatures increases [1].

Manganese is a vital microelement for plants, it activates work of more than 35 ferments, most of which increase speed of an oxidation-reduction reactions, decarboxylation, and hydrolysis. Manganese affects to chromatin structure and functions, which in its turn, takes part in all the stages of a cellular cycle [2].

Manganese ions get into plants from soil via root system. The amount of manganese directly depends on the level of soil acidity. If acidity is increasing, manganese ions are getting active and move into plants.

Optimal content of manganese ions in soil is: pH 6 - about 25 mg / kg, pH 6...6.5 - 50 mg / kg, if pH is higher than 6.5 - 70 mg / kg. That is why manganese is used as a fertilizer. It increases yield thanks to making photosynthesis and carbohydrate synthesis stronger. As a result, addition of manganese fertilizers increases the quality of yield. Lack of manganese is a feature of lime soils and soils with high pH, more than 8.5. However, it is necessary to remember that high concentration of the element leads to vital functions of a plant disturbance and plant's death [3]. Thus, the main task for a plant breeder is fertilizer balanced usage. It is important to remember that magnesium and lime are manganese antagonists. Consequently, you shouldn't use manganese and magnesium fertilizers simultaneously.

As it was mentioned before, magnesium plays a key role in plant life, as it is a part of an antioxidant structure, which protects plant cells with help of free radicals' inactivation. One of the most important manganese functions is activation of RNA polymerase.

Root system absorbs divalent manganese. If it is necessary it can turn into trivalent and quadrivalent manganese inside plants [4].

Nowadays the direct connection of manganese influence to infectious plant diseases is a well-known fact. Infectious diseases are one of the biggest threats to plants growth and development, because of lack of control measures. Still there is no exact explanation to the question how environmental conditions influence to development of plant infection diseases. There is a possibility of increasing number of viruses because of abiotic stress factors, which influence easy and wide viruses spread [5].

Yield loss because of virus disease may reach up to 80-90%. These diseases affect and redirect physiological and biochemical processes in plants, which brings to decrease of chlorophyll content and carotenoid in fruit as well as seed deterioration [6]. For instance, cucumber mosaic virus (CMV) is a typical kind of a Cucumovirus family. It can infect on average 1300 kinds of more than 500 mono and dicotyledonous plants, moreover, every year new outbreaks are reported. The disease's wide-spreading is happening due to quick adaptation to new environmental conditions. CMV genome is presented by a single-chain semantic RNA. There are three RNA segments which contain 5 open frames for reading, these frames are packed into separate icosahedral particles, and they code proteins: 1a and 2a - these proteins are parts of complex infection polymerase; 2b - post-transcriptional silencing suppressor of genes; 3a - the protein of movement; membrane protein [7].

As the result of the data mentioned above, extensive researches were conducted, they were connected to addition of vital microelements into soil, the purpose was to increase resistance to infectious diseases.

The effect of manganese to development of plant infection disease, caused by the agent *Tobacco mosaic virus (TMV)* was reported. The fact of the plant disease development reduction by adding manganese is proved by several scientists. G. Patley proved in his book "Cultural practices and crop infectious diseases" published in 1981, that manganese decreases development of infectious diseases in cultural plant - beans which were infected with TMV virus, also in the magazine "Phytopathology" edition 52, 1962, scientists E.L. Burgman and G. Boil in the article "the influence of TMV to mineral content of tomato leaves" proved the decrease of development of tomato infectious TMV disease.

Thus, thanks to admitting the fact of the manganese great role in plant resistance to infectious diseases, now there is a possibility to activate and inactivate specific metabolic processes, connected to infectious diseases. Direct usage of manganese as a fertilizer in soil can provide us with disease control in some situations, at the same time in other situations there is a necessity to change soil content in order to provide manganese access to soil [8]. Currently the *Tomato mosaic virus* is studied as it is wide spread almost all over the world. Most often this virus infects Solanaceae. The symptoms appear on the vegetative and generative organ, at any stage of a plant growth and development.

For example, there are symptoms of yellow-green mosaic virus, the deformation of a fruit may happen. This virus appears as necrosis areas on *Solanum melongena*, tomatoes are covered with dark-green or yellow-green mosaic, the leaves change form, they get dry on edges or curl up, white spots or rings appear on a fruit.

TMV is highly contagious in relation to vegetable cultures. If a plant develops from the infected seed, it may bring to total yield loss. As well as Tobacco mosaic virus, tomato mosaic virus remains in soil and decaying plants for a long time. It is spread by seeds via plant contacts, via used gardening tools, also by birds and animals [9].

Magnesium as well as manganese considerably affects to redox processes in plants, it also takes part in phosphorus transmission, sugar and fats synthesis, nitrogen fixation in nodule plants. Magnesium is contained in chlorophyll, supports ribosomes structures, activates DNA and RNA polymerases, such processes as breathing, photosynthesis, nucleic acids and proteins synthesis is impossible without magnesium. It also increases development of essential oils, rubber, and vitamins A and C.

It is well known fact that, plants absorb magnesium even if there is twenty times more Calcium. Lack of magnesium holds a plant growth, that may occur in the soils with low amount of pH and

high amount of potassium or ammonium. Magnesium ions negative effect on plants may only appear if there is more manganese than calcium, i.e. correlation is $Mg(2+):Ca(2+)>1$. If this manganese "overdose" occurs the quality of soil is getting worse, the soil is covered with crust, and becomes less permeable [10, 11].

The amount of magnesium depends on the process of corrosion, pH, and humidity of soil, also the peculiarities of the root system of a plant. Magnesium takes part in plant protection mechanisms in case of abiotic stress.

Magnesium cations are extremely movable in soil, that is why Mg losses happen in case of sandy soils leaching or washing-out by water streams. A lot of soil minerals contain magnesium inside. However, this magnesium is a structural component of a mineral crystal lattice, as a result it is not available for plant absorption. Due to these facts it is necessary to use fertilizers.

Soil pH plays a big role in the process of magnesium up-taking by plants. Chan and Heinz claim that magnesium exchange ability is kept if pH is less than 6, on the other hand, if hydrogen index increases up to 6.5, magnesium loses its exchange ability. As a result, we can be sure that lesser pH level brings us to a higher concentration of exchanged magnesium, even though high amount of hydrogen ion in rhizosphere may stop magnesium up-taking. Consequently, lack of magnesium leads to yield shortage and worsening of its quality [12].

Magnesium concentration in plants is 0.17%. magnesium holds the fourth position after, K, N, and Ca. As it was mentioned above magnesium is a part of the main green leaf pigment, chlorophyll, also it connects RNK and protein, doing that it supports ribosome structure [13].

Vermiculite, chlorite, and montmorillonite contain magnesium in their structure. Magnesium unleashes really slowly from these clays, and its concentration is not enough to support and make agriculture yield better. Magnesium containing in clay particles must become soluble, there must be a cation exchange reaction to make it happen. For instance, to change divalent magnesium, we need two potassium ions.

Most often magnesium lack happens in sandy soils with low pH level and high content of aluminum in places of cation exchange. Trivalent aluminum affects negatively to a plant root system. High potassium concentration may also affect negatively to magnesium availability. It is possible that rivalry between aluminum and magnesium is the main reason of worsening of magnesium up-taking by roots, even though high potassium content also influences a cation exchange. There are two types of magnesium fertilizers: soluble and semi soluble. Kieserite is a soluble fertilizer. It dissolves if the temperature is +25°C. Dolomite is semi soluble fertilizer. It is the most profit-proved but it dissolves slowly.

Magnesium oxide is also a semi soluble, it contains the highest concentration of fertilizers, but it extracts magnesium very slowly and in small amounts especially in cold water. For example, if the temperature is +20°C after intensive mixing the magnesium is extracted slowly.

Of course, the availability of soluble magnesium fertilizers is obvious, but we should bare in mind precipitations, especially showers [14, 15]. The positive effect from magnesium in all types of soils occurs if magnesium sulfate is added. This fertilizer is also known as epsomite. It consists of 17.7% magnesium oxide, 13.5% sulfur, and low concentration of NaCl. Magnesium fertilizer's rational usage improves yield for about 20% [16].

Magnesium as a very important element may influence directly and indirectly to plant diseases. Rational magnesium feeding plays significant role in disease resistance, as this feeding is a part of a balanced double-sided system, which is influenced by a plant genetic peculiarities and environment conditions. Magnesium lack or overflow may affect a broad spectrum of physiological functions because these processes are cross-connected.

Apart from other chemical elements there is small amount of data about direct effect of magnesium lack or overflow on plant disease. This is connected to the well-known fact that magnesium takes part in a broad spectrum of physiological functions, so separate actions connected to protection, virulence or pathogenesis is difficult to describe. Magnesium ability co-supplement or counteract other minerals may lead to various reactions and diseases in different environmental conditions.

Thus, environmental conditions, plant's biological peculiarities and studied pathogen greatly affect infection diseases. E.g. the pathogens of vascular wilt have tendency to be less strong when

there is enough magnesium, it increases the resistance to degradation if some maceration pectolytic enzyme pathogenic microorganisms take action. However, high magnesium concentrations block Ca absorption, which may lead to such diseases as tomato bacterial stain, pepper bacterial strain, or peanut rottenness.

As it was said before, there are not enough data of magnesium influence on plant disease development, nevertheless, in 2007 scientists Jones and Haber reported 22 diseases, which symptoms were reduced by magnesium adding. These diseases include: root decay, wilting, appearance of spots on leaves, development of bacterial rot, appearance of powdery mildew, necrosis, appearance of dark-brown spots, and appearance of soft rot. In 17 cases magnesium addition lead to increased development of such diseases as: appearance of yellow mosaic, Apple Bitter Pit, wheat stem rust, rot (cacao beans), tomato bacterial stain, tomato rot, bunt, brown rust of wheat. In six cases magnesium affected differently in accordance to environmental conditions [17]. To sum up, the article supports the fact of vital importance of magnesium and manganese for plants. The data mentioned above point to connection between addition of magnesium and manganese and development or suppression of plant diseases. If the lack of these elements occurs in soil it is necessary to use required fertilizers. However, we should keep in mind the acidity of soil, also environmental conditions and concentration of other metals must be kept in mind, as one metal can be antagonist to another.

Список литературы

- 1 Побилат А.Е., Волошин Е.И. Марганец в почвах и растениях южной части средней Сибири // Микроэлементы в медицине. – 2017. – Т.2. №18. – С. 43 – 47.
- 2 Рогачева С.М., Каменец А.Ф., Шилова Н.А. Влияние растворимых соединений марганца на высшие растения и оценка фитоэкстракционной способности растений // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – Т.18. №5. – С. 484-488.
- 3 Ансюк П.И. Микроудобрения. 2-е изд., переработанное и дополненное – Л.: Агропромиздат. Ленингр. Отделение. – 1990. – 272 с.
- 4 Sayed Roholla Mousavi, Mahmood Shahsavari, Maryam Rezaei. A General Overview On Manganese (Mn) Importance for Crops Production // Australian Journal of Basic and Applied Sciences. –2011. –Vol. 5. –№9. –P. 1799-1803.
- 5 Polishchuk V.P., Shevchenko O.V., Budzanivska I.G., Shevchenko T.P. Abiotic environmental factors: effects on epidemiology of plant virus infections. //Virus Diseases and Crop Biosecurity. NATO Security through Science Series. – 2006. – P. 121–132. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5298-9_11
- 6 Н. Snihur, S. Petrenko, Т. Kot, O. Shevchenko, V. Polishchuk. Widespread viral diseases endangering cereal crops in Ukraine // Мікробіол. журн.– 2018. – Т. 80. № 3. – С. 103-114.
- 7 Shevchenko T. P., Tymchyshyn O. V., Kosenko I. A., Budzanivska I. G., Shevchenko O. V., Polishchuk V. P. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian isolates of Cucumber mosaic virus based on the partial sequences of three genes. // Biopolymers and Cell. – 2018. –Vol. 34. –№1. –P. 32-40.
- 8 Huber, D. M., Wilhelm, N. S. The Role of Manganese in Resistance to Plant Diseases // Manganese in Soils and Plants. – 1988. – P. 155–173.
- 9 Пожилов І., Руднева Т., Шевченко Т., Шевченко О., Цвігун В. Філогенетичний аналіз гена капсидного білка ізолятів вірусу мозаїки томату, що циркулюють в Україні. // ВІСНИК Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія – 2019. – Т.1. №77. – С. 44-50.
- 10 Воеводина Л. А., Воеводин О. В. Магний для почвы и растений // Научный журнал Российского НИИ проблем мелиорации. – 2015. – Т.2. №18. – С. 70–81.
- 11 Протасова Н. А., Беляев А. Б. Химические элементы в жизни растений // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7. №3. – С. 25-32.
- 12 Mehmet Senbayram, Andreas Gransee, Verena Wahle, and Heike Thiel. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant– soil continuum. // Crop & Pasture Science. – 2015. – Vol. 66. – P. 1219-1229.
- 13 Журова В.Г., Светличная М.С. Изучение влияния ионов калия, кальция и магния на рост и развитие растений // Достижения науки и образования. Сельское хозяйство, лесное хозяйство, рыбное хозяйство – 2018. – С.13-15.
- 14 Robert Mikkelsen. Soil and Fertilizer Magnesium //Better Crops – 2010. – Vol. 94 – № 2. –P.26-28.
- 15 Rolf Ндрдter, Martin Rex and Kristian Orlovius. Effects of different Mg fertilizer sources on the magnesium availability in soils. //Nutrient Cycling in Agroecosystems. –2004. —№70. –P. 249–259.
- 16 Долматов А.П., Васильев И.В. Эффективность сульфата магния в ресурсосберегающих технологиях возделывания зерновых культур на южных чернозёмах Оренбургского Предуралья // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – №1. – С.26-28
- 17 Don M. Huber Jeff B. Jones. The role of magnesium in plant disease //Plant Soil. –2012. – P.1-13. doi: 10.1007/s11104-012-1476-0.

Д.С. Тоқашева, Н. Н. Иқсат, Р.Т. Омаров

*Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Нұр-Сұлтан, Қазақстан***Биологическая роль магния и марганца в развитии заболеваний у растений**

Аннотация. В современном мире металлы нашли широкое применение во всех отраслях жизнедеятельности человека. Особенно важной отраслью для Республики Казахстан является растениеводство. Металлы используются в качестве удобрений, для повышения урожайности и устойчивости сельскохозяйственных культур. В данной статье рассмотрены элементы магний и марганец, поскольку они являются ключевыми в жизнедеятельности всех растений. Нехватка в почве данных компонентов, жизненно важных для растений, приводит к появлению хлорозных пятен и полос на листьях, замедлению роста растения, снижению его устойчивости к заболеваниям и как результат гибели самого растения. Таким образом, сведения последних лет указывают на вовлеченность вышеуказанных микроэлементов в активации гиперчувствительного ответа. Данный механизм может играть ключевую роль в молекулярных стратегиях адаптации растения к заболеваниям.

Ключевые слова: магний, марганец, удобрение, концентрация, растение, вирус табачной мозаики.

Д.С. Тоқашева, Н. Н. Иқсат, Р.Т. Омаров

*Л.Н. Гумилев атындағы Еуразиялық ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан***Магний мен марганецтің өсімдіктер ауруларының дамуындағы биологиялық рөлі**

Аңдатпа. Қазіргі заманда металдар адамның тіршілік әрекетінің барлық салаларында кеңінен қолданылады. Қазақстан Республикасында өсімдік шаруашылығы аса маңызды сала болып табылады. Металдар ауыл шаруашылығы дақылдарының шығымдылығы мен тұрақтылығын жоғарылату үшін тыңайтқыштар ретінде қолданылады. Мақалада магний мен марганец элементтері қарастырылған, себебі олар барлық өсімдіктердің тіршілік әрекетінің негізгі болып табылады.

Өсімдіктер үшін топырақта өмірлік маңызы бар осы компоненттердің жетіспеуі жапырақтарда сары дақтар мен жолақтардың пайда болуына, өсімдіктің баяу өсуіне, оның ауруларға төзімділігінің азаюына және нәтижесінде өсімдіктің өзінің солып қалуына әкеліп соқтырады.

Осылайша, соңғы жылдардың мәліметтері бойынша жоғарыда аталған микроэлементтердің жоғары сезімталдығы жауапты күшейтуге тартылғандығын көрсетеді. Осы механизм өсімдіктің ауруларға бейімделуінің молекулалық стратегиясында басты рөл атқаруы мүмкін.

Түйін сөздер. магний, марганец, тыңайтқыш, шоғырлану, өсімдік, темекі мозайкасы вирусы.

References

- 1 Pobilat A.E., Voloshin E.I. Marganez v pochvah I rasteniah uzhnoi chasti srednei Sibiri [Manganese in soils and plants of the southern part of central Siberia], Mikroelementy v medezine [Trace elements in medicine], 2(18), 43 – 47(2017).
- 2 Rogacheva S.M., Kamenez A.F., Shilova N.A. Vlianie rastvorimih soedinenii marganza na vishie rastenia I otsenka fitoekstraktsionnoi sposobnosti rastenii [The effect of soluble manganese compounds on higher plants and the assessment of plant phytoextraction ability], Izvestia Samarkandskogo nauchnogo centra Rossiiskoi akademii nauk [Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences], 18(5), 484-488 (2016).
- 3 Anspok P.I. Mikroudobrenia [Microfertilizers]. 2nd ed., revised and enlarged (Agrominzdat.Leningr.Otdelenie, Leningrad, 1990,272 p.). [in Russian].
- 4 Sayed Roholla Mousavi, Mahmood Shahsavari, Maryam Rezaei. A General Overview On Manganese (Mn) Importance for Crops Production, Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(9), 1799-1803(2011).
- 5 Polishchuk V.P., Shevchenko O.V., Budzanivska I.G., Shevchenko T.P. Abiotic environmental factors: effects on epidemiology of plant virus infections, Virus Diseases and Crop Biosecurity. NATO Security through Science Series, 121–132 (2006).
- 6 Snihur H., Petrenko S., Kot T., Shevchenko O., Polishchuk V. Widespread viral diseases endangering cereal crops in Ukraine, Mikrobiol. Zhurn, 80(3), 103-114(2018).
- 7 Shevchenko T. P., Tymchyshyn O. V., Kosenko I. A., Budzanivska I. G., Shevchenko O. V., Polishchuk V. P. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian isolates of Cucumber mosaic virus based on the partial sequences of three genes, Biopolymers and Cell, 34(1), 32-40(2018).
- 8 Huber D. M., Wilhelm N. S. The Role of Manganese in Resistance to Plant Diseases, Manganese in Soils and Plants, 155–173(1988).
- 9 Pozhilov I., Rudneva T., Shevchenko T., Shevchenko O., Tsvigun V. Filogeneticheskii analiz gena kapsidnogo bilka izolativ virusu mozaiki tomato, sho tsirkuliruet v Ukraini [Phylogenetic analysis of the capsid gene gene isolates the mosaic tomato tomato, which circulate in Ukraine], Bulletin of the Kiev National University named after T. Shevchenko. Biologia, 1(77), 44-50 (2019).
- 10 Voevodina L.A., Voevodin O.V. Magnii dla pochv I rastenii [Magnesium for soil and plants], Nuchnii zhurnal Rossiiskogo NII problem melioratsii [Scientific journal of the Russian Research Institute of Melioration Problems], 2(18), 70–81(2015).
- 11 Protasova N. A., Belyaev A. B. Himicheskie element v zhizni rastenii [Chemical elements in plant life], Sorosovskii obrazovatelni zhurnal [Soros educational journal], 7(3), 25-32(2001).

- 12 Mehmet Senbayram, Andreas Gransee, Verena Wahle, and Heike Thiel. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant– soil continuum, Crop Pasture Science, 66, 1219-1229(2015).
- 13 Zhurova V.G., Svetlichnaya M.S. Izuchenie vliania ionov kalia, kaltsia i magna na rost i razvitie rastenii [Study of the effects of potassium, calcium and magnesium ions on plant growth and development], Dostizhenia nauki i obrazovaniya. Selskoe hozaistvo, lesnoe hozaistvo, ribnoe hozaistvo [Achievements in science and education. Agriculture, forestry, fisheries], 13-15(2018).
- 14 Robert Mikkelsen. Soil and Fertilizer Magnesium, Better Crops, 94(2), 26-28(2010).
- 15 Rolf Hurdter, Martin Rex and Kristian Orlovius. Effects of different Mg fertilizer sources on the magnesium availability in soils, Nutrient Cycling in Agroecosystems, 70, 249–259(2004).
- 16 Dolmatov A.P., Vasil 'ev I.V. Effectivnost sulfata magna v resursosberegaushih tehnologiah vozdelivaniya zernovih kultur na uzhnih chernozemah Orenburgskogo Preduralia [The effectiveness of magnesium sulfate in resource-saving technologies for the cultivation of crops in the southern chernozems of the Orenburg Urals], Izvestia Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of the Orenburg State Agrarian University], 1, 26-28(2018).
- 17 Don M. Huber Jeff B. Jones. The role of magnesium in plant disease, Plant Soil, 1-13(2012).

Сведения об авторах:

Токашева Д.С. – PhD студент, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымуқан көш., 13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Иксат Н.Н. – PhD студент, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымуқан көш., 13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Омаров Р.Т. – Биотехнология және микробиология кафедрасының меңгерушісі, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымуқан көш., 13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Tokasheva D.S. – PhD student, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Str. Kazmukama,13, Nur-Sultan, Kazakhstan, Kazakhstan.

Iksat N.N. – PhD student, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Str. Kazmukama,13, Nur-Sultan, Kazakhstan, Kazakhstan.

Omarov R.T. – Head of department, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Str. Kazmukama,13, Nur-Sultan, Kazakhstan, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 14.02.2020

И.А. Пунтус¹, К.Н. Жасланова², Г.М. Салхожаева³, М.К. Тыныкулов⁴,
К.М. Уразов⁵

^{1,2,5} ТОО «Biotron Group» Степногорск, Казахстан,

^{3,4} Кафедра биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета
имени Л.Н.Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

(E-mail: puntusira@mail.ru, karlygash_1506@mail.ru, gaukhar_7077@mail.ru, tynykulov@list.ru,
kunya_93-31@mail.ru)

Оптимальные технологические параметры культивирования линии клеток ВНК-21

Аннотация: В статье представлены результаты культивирования линий клеток ВНК-21 и ВНК-21(cl-13) стационарным, роллерным, роллерным монослойно-суспензионным методами. Приведены оптимальные технологические параметры культивирования клеток и подобраны ростовые модифицированные обогащенные питательные среды для испытуемых линий клеток. Рассмотрены аспекты масштабирования процесса культивирования клеток.

Подобраны оптимальные условия инкубирования линии ВНК-21(cl-13): постоянная температура $+37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ в термальной комнате, скорость вращения роллеров 0,5–0,8 об/мин, модифицированная обогащенная питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), кратность рассева 1:15-1:25 или посевная концентрация 85-150 тыс.кл/мл, метод снятия клеток–версен+трипсин (9:1). Предложен роллерный монослойно-суспензионный метод культивирования для накопления биомассы клеток ВНК-21(cl-13) в роллерах.

Ключевые слова: линии клеток ВНК-21 и ВНК-21(cl-13), стационарные, роллерные, роллерные монослойно-суспензионные методы, модификация, вакцина, культура, титр, монослой, инкубация.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-37-46>

Введение. Ветеринарная биологическая промышленность Республики Казахстан нуждается в современных технологиях, которые позволят сделать нашу продукцию «привлекательной» на внутреннем рынке и конкурентоспособной на внешнем. Культивирование клеток и вирусов в традиционной биотехнологии при производстве живых и инактивированных вирусных вакцин проводится по методам стационарного, роллерного, суспензионного культивирования и культивирования на микроносителях [1, 2, 3, 4].

Использование метода стационарного культивирования клеток ограничено большими затратами рабочего времени, материалов и реактивов, при этом урожай клеток лимитирован доступной для роста поверхностью культурального сосуда.

Роллерный метод культивирования позволяет получить значительно большее количество клеток по сравнению с традиционным стационарным методом. Он более экономичен, характеризуется оптимальным отношением полезной площади культивирования к объему питательной среды и открывает благоприятные возможности для накопления клеточной массы и получения более высокого выхода вирусного антигена (на 1,0–2,0 lg в сравнении со стационарным). При этом методе возможны различные пути увеличения площади поверхности роллерных сосудов, на которой происходит прикрепление и размножение клеток. Способностью к росту и размножению в роллерных условиях обладают субкультуры, диплоидные и перевиваемые культуры, реже первичные линии. Для лучшего размножения клеток в роллерных аппаратах необходима первичная их адаптация к новым условиям культивирования. Стационарный и роллерный методы культивирования относятся к непроточным монослойным двухмерным (2D) системам культивирования [5, 6, 7].

Очевидны некоторые преимущества монослойных культур: высокая плотность клеток в монослое; возможность полной замены питательной среды в процессе культивирования; наличие тесных межклеточных контактов, которые требуются для распространения вирусов; частичная контаминация отдельных сосудов не приводит к потере всей серии биоматериала.

К недостаткам монослойных культур следует отнести: требование большой поверхности субстрата; высокая стоимость и трудоемкость при масштабировании, трудность отбора проб для контроля; неоднородность получаемого биоматериала; сложность контроля pH и концентрации кислорода.

Рост требований к количеству и качеству разрабатываемых вакцин способствовал усовершенствованию методов культивирования клеток. Принципиальный шаг в этом направлении сделан при разработке суспензионного и псевдосуспензионного методов культивирования [8].

Промышленное производство биопрепаратов представляет собой сложный комплекс взаимосвязанных физических, химических, биохимических процессов, происходящих в разнообъемном и разнотипном оборудовании, связанном в технологические линии. Ключевым моментом производства вакцин является процесс отработки технологических параметров культивирования клеток в лабораторных условиях с последующим масштабированием поверхностнозависимых и суспензионных культур клеток. Этапы определения оптимальных параметров культивирования связаны с получением качественной биомассы клеток, чувствительной к заражению производственным вирусом. Основные принципы масштабирования связаны со способностью животных культур клеток расти в двух отдельных системах - монослойной и суспензионной, при этом выделяют два подхода к масштабированию - объемный и прогрессивный [3, 5, 7, 8].

При масштабировании лабораторных технологий необходимо учитывать возрастающий риск контаминации пропорционально высокой стоимости используемой культуры клеток, а так же приготовление питательной среды и качественной раскладки культуры клеток в оптимальном физиологическом состоянии. Контроль этих параметров на должном уровне позволит рассматривать масштабирование как наиболее прогрессивный процесс в биотехнологии производства вакцин [5, 8].

Целью наших исследований было изучение оптимальных технологических параметров культивирования клеток ВНК-21 и ВНК-21(cl-13) стационарным, роллерным, роллерно-суспензионными методами культивирования.

Для этой цели нами были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучение оптимальных технологических параметров и условий проведения стационарного и роллерного способов выращивания монослойной линии клеток ВНК-21 и суспензионной культуры ВНК-21 (cl-13).
2. Подбор оптимальной питательной среды для суспензионной линии клеток ВНК-21 (cl-13).

Методы исследований. Для проведения исследований использовалась перевиваемая культура клеток ВНК-21 (Baby Hamster Kidney cell line 21, почка новорожденного сирийского хомячка) с паспортными данными: тип роста – фибробластоподобный, способ культивирования – монослойный, жизнеспособность не менее 92%, кариологическая характеристика - $2n=44$, модальное число хромосом - 49-50, маркеры отсутствуют (рутинная окраска), а так же перевиваемая культура клеток ВНК-21 (cl-13) - клон, адаптированный для суспензионного и монослойного культивирования. Исходно полученные культуры клеток выращивались на синтетических питательных средах Игла+199 с добавлением 10% сыворотки крови КРС.

В опытах по подбору оптимальной ростовой среды для тестируемых культур клеток использовали синтетические питательные среды ЕМЕМ (ИглаМЕМ), ДМЕМ (Дюльбека МЕМ), среду 199 и ферментативные: гидролизат мышечных белков сухой (ФГМ-С), гидролизатлактатальбумина (ГЛА) в различных сочетаниях основных компонентов с добавлением 10% нормальной сыворотки крови КРС и обогащением питательных сред факторами, стимулирующими рост клеток (растворы витаминов, стабилизированных аминокислот, углеводы). Во всех вариациях питательных сред добавлялись антибиотики – бензилпенициллина натриевая соль и стрептомицина сульфат в дозе 100 ЕД/мл- и проводили коррекцию pH 7,57%-ым раствором бикарбоната натрия.

При работе использовались общепринятые методики трипсинизации клеток, их подсчета и посева с соблюдением правил работы в стерильных боксовых помещениях.

Культивирование клеток проводили по общепринятой методике на пластиковых матрасах ($V=50-200 \text{ см}^3$), стеклянных матрасах ($V=1500 \text{ см}^3$) и стеклянных роллерных флаконах ($V=2000$ и 3000 см^3). Для определения количества клеток, индекса пролиферации и процента жизнеспособных клеток ежедневно снимали по три матраса в течение 7 дней жизненного цикла и проводили подсчет клеток в камере Горяева, используя 0,5% водный раствор трипанового синего по общепринятым методикам. Каждые 12 ч в течение 5 суток культивирования проводили микроскопирование исследуемой линии клеток, оценивая состояние культуры, морфологию, формирование клеточного монослоя. Инкубировали в термальной комнате при $+37 \pm 0,2^{\circ} \text{C}$ со скоростью вращения роллеров 0,4–0,6 об/мин. на роллерной установке «Weaton» [2].

Для отработки методики роллерного монослойно-суспензионного накопления биомассы клеток ВНК-21 (с1-13) проводили модифицированное роллерное культивирование клеток в сосудах объемом 2,0 л с загрузкой от 100 до 400 мл подобранной ростовой среды с посевной концентрацией клеток от 50 до 100 тыс./мл и со скоростью вращения роллеров 0,4-0,7-1,0-2,5 об/мин. Подбор параметров роллерно-суспензионного культивирования проводили в сравнении с базовым вариантом роллерного культивирования, формируя контрольные и опытные группы по принципу подобия, меняя несколько параметров выращивания клеток.

Критериями оценки результатов при роллерном методе культивирования являлись выход клеток и индекс пролиферации, жизнеспособность клеток и индекс пролиферативной активности в следующем пассаже [9, 10, 11].

Результаты и их анализ. При работе с культурой клеток **ВНК-21** в стационарном монослое использовались синтетические и ферментативные питательные среды с добавлением 10% нормальной сыворотки крови КРС. Исследования показали, что использование гидролизатной питательной среды ФГМ-С в различных модификациях позволяет получать средний выход клеток с матраса в 1,5-2,0 раза больше в сравнении с базовыми вариантами (ДМЕМ, ДМЕМ+ГЛА и Игла МЕМ).

Для последующих работ были отобраны полусинтетическая питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ (3:1) и синтетическая Игла МЕМ+199 + 10% сыворотки КРС серии №2, которые в пассажах давали стабильные результаты. Установлено, что обогащение полусинтетической питательной среды ФГМ-С+ДМЕМ факторами, стимулирующими рост клеток (растворы витаминов в объеме 3-5% к питательной среде, стабилизированные моно и комплексы аминокислоты, D-глюкоза) значимо не увеличивало индекс пролиферативной активности, а лишь незначительно ускоряло процесс формирования клеточного монослоя и улучшало морфологические показатели клеточной культуры. В то же время добавление D-глюкозы более чем 2000 мг/л вызывало подкисление питательной среды и гибель до 5% клеток. Добавление концентрата незаменимых аминокислот и L-глутамина в количестве 200 мг/л позволило закрепить максимальные выходы клеток на уровне $81,0 \pm 9,5$ млн.кл./матр. Коррекция витаминного и аминокислотного состава синтетической среды Игла МЕМ+199 не показала видимых изменений ни в ростовых, ни в культурально-морфологических показателях. Жизнеспособность клеток в обоих вариантах культивирования составляла 97-99%.

Стационарное культивирование клеток ВНК-21 в стеклянных и пластиковых флаконах (рисунок - 1) показало, что к 24-48ч клетки начинали формировать обширные зоны роста, а формирование полного монослоя клеток происходит к 72-96 часам при посевной концентрации 50–100 тыс.кл/мл., а наслоение клеток практически отсутствовало при культивировании 5-суточными циклами.

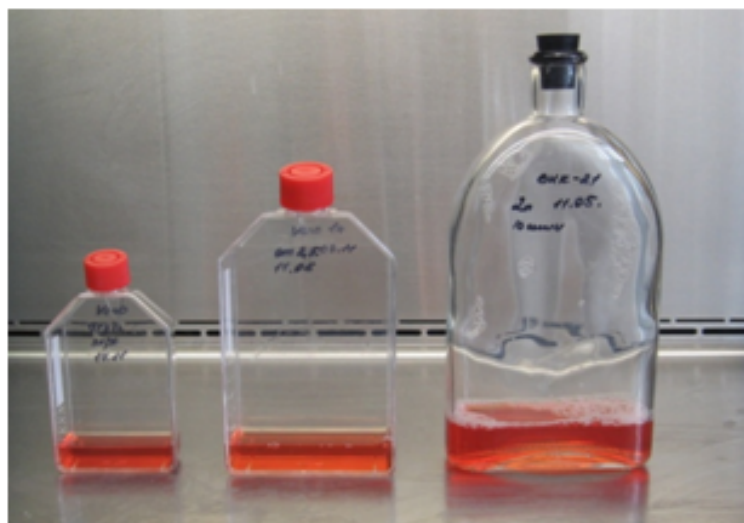


Рисунок 1 – Матрасы с культурой клеток ВНК-21, стационарное культивирование

При накоплении клеток в матрасах РУ объемом 1500 мл ($S \approx 260 \text{ cm}^2$) выход составил $81,0 \pm 9,5$ млн.кл./матр. (ИП=7,3-10,4). Условия стационарного культивирования – температура $+37^0 \text{ C}$, 5-суточные циклы. Отработывая 7-суточные циклы накопления клеток, установили, что необходимо снижение посевной концентрации на 30-35% и дополнительная корректировка pH питательной среды на 5-е сутки культивирования с 6,8-6,9 до 7,05-7,1, при этом ИПА составил 6,5-9,0.

Получили следующие оптимальные условия стационарного культивирования клеток ВНК-21: температура $+37 \pm 0,1^0 \text{ C}$, 5-суточные циклы пересевов, питательная среда Игла MEM+199 или ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), кратность посева 1:7 или посевная концентрация 50–100 тыс.кл/мл, метод снятия клеток - версен+трипсин (4:1).

Роллерное культивирование клеток ВНК-21 проводили в стеклянных роллерных флаконах объемом 2,0 л ($S \approx 800 \text{ cm}^2$) – выход клеток составил $157,8 \pm 30,9$ млн.кл./рол., и $253,8 \pm 38,4$ млн.кл./рол. с 3-х литровых сосудов ($S \approx 1200 \text{ cm}^2$) (ИП=11,0-15,0), при этом посевная концентрация составляла 70–100 тыс.кл/мл. Культивирование проводили в термальной комнате при $+37 \pm 0,2^0 \text{ C}$ и постоянном вращении со скоростью 0,25-0,5 об/мин, пятисуточными циклами, метод снятия - версен+трипсин (9:1). В сравнительном аспекте роллерное культивирование монослойной линии ВНК-21 в 2,0-2,5 раза эффективнее стационарного при тех же затратах питательных сред и реактивов.

По отработанным технологическим параметрам стационарного культивирования на оптимальной ростовой питательной среде Игла MEM+199 провели накопление культуры клеток ВНК-21 в количестве 10 матрасов, 5-й пассаж, которую после трипсинизации использовали для закладки в лабораторную коллекцию клеток. Приготовили 45 криопробирок общим объемом 5,0 мл с культурой клеток ВНК-21 и криопротектором диметилсульфоксидом.

Подбор оптимальной питательной среды для суспензионной линии клеток ВНК-21 (cl-13) проводили из тех же питательных сред, что и для монослойного клона, но выращивание клеток проводили роллерным способом для лучшей оценки клеточного монослоя. При культивировании клеток ВНК-21 (cl-13) роллерным способом использовали посевную концентрацию клеток 10 млн.кл./рол. Инкубирование проводили при $+37^0 \text{ C}$ в термальной комнате, скорость вращения роллеров- 0,5–0,8 об/мин. Пассажи клеток проводили пересевом через 5 и 7 суток. В каждом опыте использовали по 3 роллерных флакона объемом 2 литра. Результаты исследований роста суспензионной перевиваемой линии клеток ВНК-21 (cl-13) на некоторых испытываемых питательных средах представлены в таблице-1.

Таблица 1 – Данные исследования ростовых свойств клеток ВНК-21 (с1-13) при культивировании роллерным способом на некоторых испытуемых питательных средах

| Компоненты среды | Проведено пассажей | Выход клеток роллера, млн.кл. с | Выход клеток роллера, ср.знач., млн.кл. с | Индекс пролиферации |
|------------------|--------------------|---------------------------------|---|---------------------|
| ДМЕМ* | 14/6 | 120–200 | 157,8±30,94 | 8,5–19,0 |
| ДМЕМ+ГЛА* | 12/10 | 115–230 | 161,67±46,63 | 11,5–23,0 |
| ЕМЕМ+ФГМ-С* | 13/8 | 150–300 | 226,67±78,48 | 15–30 |
| ЕМЕМ | 10 | 95–140 | 126±28,54 | 9,5–14,0 |
| ФГМ-С | 5/4 | 100–160 | 143,33±27,08 | 10–16 |
| ФГМ-С+ГЛА | 8/10/12 | 165–320 | 228,33±65,35 | 16,5–32,0 |
| ФГМ-С+ДМЕМ | 6/17/14 | 250–350 | 290,0±36,40 | 25–35 |
| ФГМ-С+ГЛА+ДМЕМ | 10/14 | 270–450 | 340,0±73,05 | 27–40 |

* – базовый вариант культивирования $n=3$, $P < 0,05$

Как видно из таблицы 1, выход клеток и, соответственно, индекс пролиферации изучаемой суспензионной линии колеблется в довольно в широких интервалах. Использование модифицированных нами ферментативных сред ФГМ-С+ДМЕМ и ФГМ-С+ГЛА+ДМЕМ позволило значимо увеличить выход клеток в сравнении с базовым вариантом сред (до 290,0–340,0 ± 54,7 млн/мл), что подтверждает статистический инструмент анализа данных: двухвыборочный t-тест с одинаковыми дисперсиями (t -статистика 3,68610 > t -критическое двустороннее 2,44691, и $P(T < =t)$ двустороннее 0,0102 < заданного уровня значимости $P=0,05$).

Стационарное культивирование клеток ВНК-21 (с1-13) на питательной среде ФГМ-С+ДМЕМ показало, что формирование монослоя клоном клеток с1-13 происходит быстрее, чем монослойной линией (ВНК-21). После формирования монослоя к 48 часам часть клеток ВНК-21(с1-13) начинала формировать обширные зоны роста сверху монослоя, часть клеток отторгалась в среду, где их размножение происходило неинтенсивно (единичные клетки). Культура клеток ВНК-21 при той же посевной концентрации образовывала полный монослой к 72-96 часам, а наслоение клеток практически отсутствовало при культивировании 5-суточными циклами. При накоплении клеток в матрасах объемом 650 мл ($S=175 \text{ см}^2$) получали выход клеток $43,3 \pm 6,2$ млн.кл./матр. (ИПА=12,0-16,2), в матрасах РУ объемом 1500 мл ($S \approx 260 \text{ см}^2$) выход составил $86,0 \pm 11,7$ млн.кл./матр. (ИПА=14,0-17,4). Следует отметить, что несмотря на небольшую разницу в численном выходе клеток ВНК-21 и ВНК-21 (с1-13), которые составили $81,0 \pm 9,5$ и $89,5 \pm 11,7$ млн.кл./матр., соответственно, ИПА у культуры ВНК-21(с1-13) при стационарном культивировании был выше в 1,5-2,5 раза.

Роллерное культивирование ВНК-21 (с1-13) проводили по технологии масштабирования в роллерных флаконах объемом 2,0 л ($S \approx 800 \text{ см}^2$), получали средние выходы $290,0 \pm 36,40$ млн.кл./рол., 3,0 л ($S \approx 1200 \text{ см}^2$) - $428 \pm 42,90$ и $535,0 \pm 65,3$ млн.кл./рол., с 4-х литровых сосудов ($S \approx 1600 \text{ см}^2$) (ИП=25,0-35,0). Дальнейшее направление масштабирования было связано с использованием 3-х литровых рифленых роллерных сосудов, которые при тех же объемах имеют в 2-3 раза большую площадь роста. В сравнительном аспекте роллерное культивирование клеток ВНК - 21(с1-13) в 3,0-3,5 раза эффективнее стационарного при тех же затратах питательных сред и реактивов (рисунок 2).



Рисунок 2 – Роллеры с культурой клеток ВНК-21(с1-13), объемом 2, 3, 4 литра

При культивировании клеток роллерным способом отработали посевную концентрацию клеток 10 млн.кл./2. рол. Подобраны оптимальные условия инкубирования: постоянная температура при $+37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ в термальной комнате, скорость вращения роллеров 0,5–0,8 об/мин, модифицированная обогащенная питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), кратность посева 1:15-1:25 или посевная концентрация 85-150 тыс.кл/мл, метод снятия клеток версен+трипсин (9:1). Пассажи клеток проводили как 5-ти, так и 7-ми суточными циклами пересевов.

По отработанным параметрам на оптимальной ростовой модифицированной питательной среде ФГМ-С+ДМЕМ (3:1) провели накопление культуры клеток ВНК-21(с1-13) в количестве 8 роллеров, 4-й пассаж, которую после трипсинизации использовали для закладки в лабораторную коллекцию клеток с криопротектором диметилсульфоксидом.

Для увеличения количественного выхода клеток с роллерного флакона мы использовали способность суспензионной культуры клеток ВНК-21(с1-13) реплицироваться одновременно в роллерном монослое и в суспензии питательной среды ФГМ-С+ДМЕМ (3:1). Для этого мы увеличили скорость вращения роллеров до 1,0–2,5 об/мин., довели объем питательной среды до 200 и 400 мл, при посевной концентрации клеток 100 тыс./мл, что стало основой двух опытных групп. При базовом варианте культивирования скорость вращения роллеров составляла 0,4–0,6 об/мин, объем питательной среды – 100 мл, посевная концентрация клеток – 100 тыс./мл. Контролем опыта служили роллеры с заполнением на 200 и 400 мл, со скоростью вращения 0,4–0,7 об/мин и посевной концентрацией клеток 100 тыс./мл.

Установлено, что максимальный выход клеток отмечался в опытной группе №2 при объеме заполнения роллеров 400 мл и скорости вращения до 1,5–2,5 об/мин., который в 3–5 раз был выше, чем в базовом варианте культивирования, и в 1,35 раза больше, чем в идентичной контрольной группе, но со скоростью вращения роллеров 0,4–0,7 об/мин (таблица-2).

Таблица 2 – Экспериментальные группы и результаты культивирования клеток ВНК-21(с1-13) роллерно-суспензионным методом

| Экспериментальные группы | Объем заполнения, мл | Скорость вращения, об/мин | Выход клеток в монослое, млн.кл/рол | Выход клеток в суспензии, тыс.кл/мл* | Всего клеток в отношении к базовому варианту |
|--------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Базовый вариант | 100 мл | 0,4–0,7 | 186,7±46,43 | 166,6±125,83 | 1,0 (100%) |
| Контроль №1 | 200 мл | 0,4–0,7 | 200±40,82 | 680,7±125,29 | 1,5 и > |
| Опытная №1 | 200 мл | 1,0–2,5 | 226,6±49,88 | 866,7±133,17 | 1,8 и > |
| Контроль №2 | 400 мл | 0,4–0,7 | 246,7±57,35 | 913,3±331,26 | 2,8 и > |
| Опытная №2 | 400 мл | 1,0–2,5 | 303,3±67,98 | 1590,5±461,38 | 4,3 и > |

* – приведен выход клеток в логарифмической фазе роста $P < 0,05$

Из таблицы 2 видно, что максимальный выход клеток отмечался в опытной группе №2, который в 2,5–5 раз был выше, чем в базовом варианте, и в 1,35 раза больше, чем в идентичной контрольной группе №2. Максимальное общее количество клеток в этой группе с монослоя и суспензии достигало 940–1210 млн.кл/рол (рисунок-3), а в контрольной группе №2 на 260–410 млн. клеток меньше.

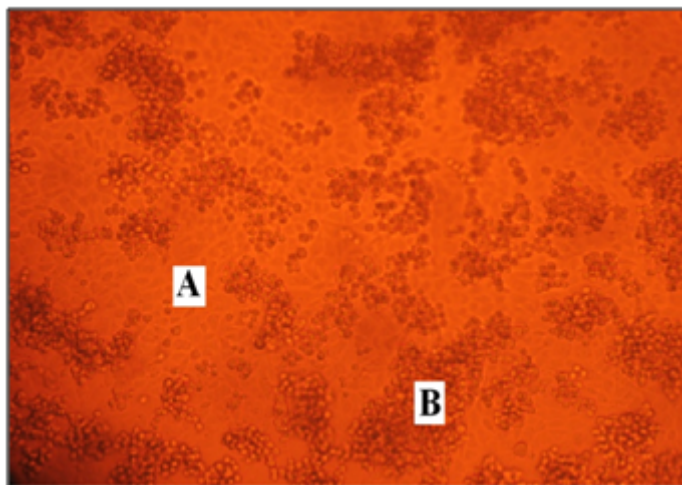


Рисунок 3 – Одновременный интенсивный рост клеток ВНК-21(сl-13) в монослое (А) и в суспензии (В) через 72 часа культивирования

Индекс пролиферативной активности составил: в опытных группах №1 и 2 – от 8,0 до 16,5; в контрольных группах №1 и 2 – от 7,5 до 14,0; в базовом варианте – 14,0–21,0 (что связано с наименьшей посевной концентрацией клеток, следовательно, сравнение ИПА является сугубо относительным). Жизнеспособность клеток во всех группах составляла 96–99%.

Кривые роста клеток ВНК-21(сl-13) в суспензии при роллерном монослойно-суспензионном культивировании по условиям выращивания клеток в опытной группе №2 представлены на рисунке 4.

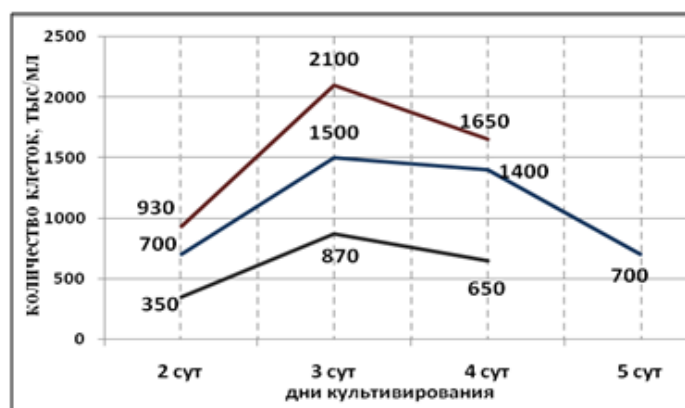


Рисунок 4 – Кривые роста клеток ВНК-21(сl-13) в суспензии при роллерном монослойно-суспензионном культивировании

По данным изучения роста клеток ВНК-21(сl-13) в суспензии (рисунок 4) был определен оптимальный срок получения биомассы клеток на пике логарифмического роста, который наблюдался через 72 часа культивирования. В последующие 24 часа рост замедлялся, переходил в стационарную фазу роста клеток с умеренным снижением количества клеток и резким снижением популяции клеток в период от 96 до 120 часов культивирования.

Решающими факторами, которые стимулировали пролиферативную активность клеток при роллерном монослойно-суспензионном способе культивирования клеток ВНК-21(сl-13), стали обороты вращения роллеров, увеличение объема культуральной жидкости

и посевной концентрации клеток. Увеличение оборотов способствовало лучшему газообмену и преимущественному размножению клеток в культуральной среде (в суспензии). Дополнительное количество питательной среды, коррелирующее с увеличением посевной концентрации, также способствовало усиленному росту клеток. Подобранный нами модифицированная обогащенная питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ позволила получить максимальный выход клеточной массы при оптимизации условий культивирования клеток роллерно-суспензионным методом.

Данный метод культивирования позволяет сократить объем работ по накоплению клеток для заправки биореактора с 40 роллеров до 10, снижает расход питательных сред и реактивов более чем в 3 раза, а также дополняет свежеприготовленную питательную среду культуральной жидкостью, полученной после выращивания гомологичных клеток, образуя тем самым кондиционированную питательную среду.

Предложенный роллерно-суспензионный метод культивирования клеток ВНК-21(c1-13) позволяет получить выход клеток минимум в 2,7 раза выше, чем в базовом варианте культивирования, и может быть использован для накопления биомассы клеток. Полученные роллерно-суспензионным способом клетки ВНК-21(c1-13) были испытаны при загрузке биореактора для культивирования суспензионным способом.

Заключение.

1. Изучены оптимальные технологические параметры и условия проведения стационарного и роллерного способов выращивания монослойной линии клеток ВНК-21 и суспензионной культуры ВНК-21(c1-13), подобрана обогащенная модифицированная ростовая питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ (3:1) + D-глюкоза 4000 мг/л, + L-глутамин 150–300 мг/л и ростовая сыворотка крови КРС для максимального накопления клеток.

2. Отработаны оптимальные условия стационарного культивирования клеток ВНК-21: температура $+37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, 5-суточные циклы пересевов, питательная среда Игла МЕМ+199 или ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), кратность посева 1:7 или посевная концентрация 50–100 тыс.кл/мл, метод снятия клеток –версен+трипсин (9:1).

3. Подобраны оптимальные условия инкубирования линии ВНК-21(c1-13): постоянная температура при $+37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ в термальной комнате, скорость вращения роллеров 0,5–0,8 об/мин, модифицированная обогащенная питательная среда ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), кратность посева 1:15-1:25 или посевная концентрация 85-150 тыс.кл/мл, метод снятия клеток –версен+трипсин (9:1).

4. Предложен роллерный монослойно-суспензионный метод культивирования для накопления биомассы клеток ВНК-21(c1-13) в роллерах для последующей заправки биореактора, позволяющий увеличить выход клеток в 2,5–5 раз по сравнению с базовым вариантом роллерного культивирования. При этом получали до 940–1210 млн.кл/ролл., культивируя клетки ВНК-21(c1-13) по разработанной схеме: исходная концентрация клеток – 100 тыс.кл/мл; объем среды – 400 мл/ролл; скорость вращения флаконов – 1,0–2,5 об/мин.

5. Проведено депонирование перевиваемых культур клеток ВНК-21 и ВНК-21(c1-13) в лабораторную клеточную коллекцию (низкотемпературное хранение -86°C и жидкий азот -196°C), подготовлена технологическая инструкция по криоконсервированию перевиваемых культур клеток.

Список литературы

- 1 Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков. -М.: «Мир», 1983. -263 с.
- 2 Блажевич О.В. Культивирование клеток. -Мн.: «БГУ», 2005. -78 с.
- 3 Дьяконов Л.П., Ситков В.И. Животная клетка в культуре.-М.: «Спутник», 2000. -400 с.
- 4 Дьяконов Л.П. Культивирование клеток и тканей животных. -Ставрополь.: «Правда», 1988. -91 с.
- 5 Алмагамбетов К.Х. Основы биотехнологии [Электронный ресурс].– 2006. –URL: <http://biotechnolog.ru.kz/stst-2006.htm> (дата обращения:20.06.2013)
- 6 Фрешни Р. Культура животных клеток. -М.: «Мир» 1989. -318 с.
- 7 Бальшев В.М., Жестерев В.И., Горшкова Т.Ф. Разработка и использование вирусвакцины против оспы овец сухой культуральной//Производство и контроль медицинских ветеринарных препаратов, опыт применения и реализации их в странах СНГ: Тезисы докладов конференции. –Вольгинский, 1999. - 22 с.

- 8 Достоевский П.П., Судаков Н.А., Атамас В.А. Справочник ветеринарного врача. – К.: «Урожай», 1990. 784 с.
- 9 Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. – М.: «Колос», 1998. 928 с.
- 10 Жавненко В.М. Практикум по вирусологии. – Минск.: «Дизайн», 1998. 144 с.
- 11 Госманов Р.Г., Колычев Н.М. Ветеринарная вирусология. – М.: «Колос», 2006. 288 с.

И. А. Пунтус¹, К.Н. Жасланова², Г.М. Салхожаева³, М.К. Тыныкулов⁴, К.М. Уразов⁵

^{1,2,5} «Biotron Group» ЖШС, Степногор, Қазақстан

^{3,4} Биотехнология және микробиология кафедрасы, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

ВНК-21 жасуша линияларын өсіруде қолайлы технологиялық параметрлер

Аннотация. Мақалада ВНК-21 және ВНК-21(cl-13) жасушалар желілерін тұрақты, роллерлік, роллерлік моноқабатты-суспензиялық әдістермен өсіру нәтижелері берілген.

Жасушаларды өсірудің қолайлы технологиялық параметрлері келтірілген және зерттелетін жасуша линияларын өсіруде модификацияланған байытылған қоректік орталары таңдап алынған. Жасушаларды өсіру процесін масштабтау аспектілері қарастырылған.

ВНК-21(cl-13) желісін инкубациялаудың қолайлы шарттары таңдап алынды: қолайлы температура $+37 \pm 0,1$ °C жылы бөлмеде, роллерлердің айналу жылдамдығы 0,5–0,8 айн/мин, модификацияланған байытылған қоректік орта ФГМ-С+ДМЕМ (3:1), егу жиілігі 1:15–1:25 немесе егу концентрациясы 85–150 мың.кл/мл, жасушаларды алу әдісі – версен+трипсин (9:1). Роллерде ВНК-21(cl-13) жасушаларының биомассасын жинақтауға арналған роллерлік моноқабатты-суспензиялық әдіс ұсынылды.

Түйін сөздер. ВНК-21 және ВНК-21(cl-13) жасушалар желілері, стационарлы, роллерлі, роллерлік моноқабатты-суспензиялық әдістер, модификациялау, вакцина, культура, титр, моноқабат, инкубация.

I.A. Puntus¹, K.N. Zhaslanova², G.M. Salkhozhayeva³, M.K. Tynykulov⁴, K.M. Urazov⁵

^{1,2,5} LLP “Biotron Group” Stepnogorsk, Kazakhstan

^{2,3} Department of Microbiology and Biotechnology of L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan

The optimal technological parameters of cultivation of the cell line VNK-21

Abstract. The article presents the results of cultivation of cell lines VNK-21 and VNK-21(cl-13) stationary, roller, roller monolayer-suspension methods. Optimal technological parameters of cell cultivation are given and growth modified enriched nutrient media are selected for the tested cell lines. Aspects of scaling the process of cell culture are considered.

The optimal incubation conditions of the VNK-21(cl-13) line were selected: constant temperature $+37 \pm 0.1$ °C in the thermal room, roller rotation speed 0.5–0.8 rpm, modified enriched nutrient medium FGM-C+DMEM (3:1), sieving multiplicity 1:15–1:25 or sowing concentration 85–150 thousand CL/ml, cell removal method - versin+trypsin (9:1). A roller monolayer-suspension cultivation method is proposed for accumulation of biomass of VNK-21(cl-13) cells in rollers.

Keywords. VNK-21 and VNK-21(cl-13) cell lines, stationary, roller, roller monolayer-suspension methods, modification, vaccine, culture, titer, monolayer, incubation.

References

1. Adams R. Metody kultury kletok dlya biohimikov [Cell culture Methods for biochemists], (Mir, Moscow, 1983).
2. Blajevich O.V. Kultivirovanie kletok [Cultivation of cells], (BGЭ, Minsk, 2005).
3. Diakonov L.P., Sitkov V.I. Jivotnaya kletka v kulture [Animal cell in culture], (Sputnik, Moscow, 2000).
4. Diakonov L.P. Kyktivirovanie kletok i tkanei jivotnyh [Cultivation of cells and tissues of animals], (Pravda, Stavropol, 1988).
5. Almagambetov K.H. Osnovy biotekhnologii [Fundamentals of biotechnology], Elektronnyi resurs [Electronic resource], (2006). Available at: <http://biotechnolog.ru>. (Accessed: 20.06.2013).
6. Freshni R. Kylytra jvyotnyh kletok [Culture of animal cells] (Mir, Moscow, 1989).
7. Balyshev V.M., Zhesterev V.I., Gorshkova T.F. Razrabotka i ispol'zovanie virusvacciny protiv ospy ovec suhoj kul'tural'no'j proizvodstvo i kontrol' medicinskih veterinarnyh preparatov, opyt primeneniya i realizacii ih v stranah SNG [Development and use of virus vaccine against sheep smallpox dry cultural, Proizvodstvo i kontrol' medicinskih veterinarnyh preparatov, opyt primeneniya i realizacii ih v stranah SNG [Production and control of veterinary drugs, experience of their application and implementation in the CIS countries]. Abstracts of the conference (Vol'ginskij, 1999, p. 22.).
8. Dostoevskij P.P., Sudaakov N.A., Atamas V.A. Spravochnik veterinarnogo vracha [Manual of a veterinary] (Urozhaj, Moscow, 1990).
9. Syurin V.N., Samujlenko A.YA., Solov'ev B.V., Fomina N.V. Virusnye bolezni zhivotnyh [Viral diseases of animals] (Kolos, Moscow, 1998).
10. Zhavnenko V.M. Praktikum po virusologii [Workshop on virology] (Dizajn, Minsk, 1998).
11. Gosmanov R.G., Kolychev N.M. Veterinarnaya virusologiya [Veterinary Virology] (Kolos, Moscow, 2006).

Сведения об авторах:

Пунтус И.А. - заведующий лабораторией культур клеток ТОО "Biotron Group", Пром. зона 4, корпус 7, Степногорск, Казахстан.

Жасланова К.Н. - вирусолог ТОО "Biotron Group", Пром. зона 4, корпус 7, Степногорск, Казахстан.

Салхожаева Г.М. – кандидат биологических наук, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Мунайтпасова, 13, корпус № 3, Нур-Султан, Казахстан.

Тыныкулов М.К. - кандидат сельскохозяйственных наук, старший преподаватель, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Мунайтпасова, 13, корпус № 3, Нур-Султан, Казахстан.

Уразов К. М. – старший вирусолог ТОО "Biotron Group", Пром. зона 4, корпус 7, Степногорск, Казахстан.

Puntus I. A. – "Biotron Group" LLP, head of the laboratory of cell cultures, Ind. zone 4, building 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Zhaslanova K.N. – "Biotron Group" LLP, virologist, Ind. zone 4, building 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Salkhzhayeva G. M. – candidate of biological sciences, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Munaytpasov 13, building №3, cab. 234, Nur-Sultan, Kazakhstan,

Тыныкулов М. К.- candidate of agricultural sciences, senior lecturer, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Munaytpasov 13, building №3, cab. 234, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Urazov. K.M. – "Biotron Group" LLP, senior virologist, Ind. zone 4, building 7, Stepnogorsk, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 27.01.2020

И.А. Жирнова, А.Б. Рысбекова, А.Е. Жакенова, Э.Н. Дюсибаева, А.И. Сейтхожаев

*Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Нур-Султан, Казахстан
(E-mail: aiman_rb@mail.ru)*

Оценка результативности способов искусственной принудительной гибридизации просо посевного (*Panicum miliaceum* L.)

Аннотация: В данной статье приведены сравнительные данные по оценке эффективности искусственной принудительной гибридизации проса посевного (*Panicum miliaceum* L.) в полевых условиях. В исследовательской работе использовали несколько методов кастрации: кастрация при помощи пинцета или ручная, водно-термическая и химическая. По полученным данным высокая результативность гибридизации была получена при использовании химической кастрации, т.е. опрыскиванием метелки 2,5% водным раствором 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Использование данного способа позволило получить 3355 штук гибридных семян из 15 комбинации, при этом процент завязываемости в среднем составил 43,6 %. Данный показатель выше по сравнению с ручной и водно-термической кастрациями на 83,2% и 50,9 % соответственно, к тому же этот способ является наименее трудозатратным.

Ключевые слова: просо, коллекция, гибридизация, методы кастрации, опыление.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2020-130-1-47-54>

Введение. Просо посевное (*Panicum miliaceum* L.) ценная зерновая, крупяная и кормовая культура, способная произрастать и давать окупаемый урожай даже в условиях недостаточной влагообеспеченности. Просо принадлежит семейству злаковых, число хромосом составляет $2n=4 \times =36$. Оно является культурой с коротким периодом вегетационного развития, возделываемым в засушливых регионах Азии, Африки, Европе, странах СНГ, Австралии и Северной Америке [1, 2].

Для сухостепной зоны Казахстана просо – крупяная культура, которая может выращиваться благодаря своим минимальным требованиям к влаге, солевывносливостью и возможностью регулирования сроков посева. Не смотря на огромный потенциал данного растения производство получает только 35-40 % ее внутренних резервов [3]. Просо посевное в условиях сухостепной зоны нашей Республики одна из культур, которую можно выращивать для пищевого и кормового производства [4].

Гибридизация один из наиболее результативных методов получения новых сортов. Искусственное скрещивание стало наиболее эффективным после создания новых его методов. Внутривидовая гибридизация с индивидуальным отбором в первых поколениях с оценкой их урожайности и хозяйственно ценных признаков полученных линий на данный момент является одним из основных способов селекции проса посевного. Для получения рекомбинантных форм проса в гибридизации лучше всего использовать районированные сорта и имеющие высокий потенциал образцы других регионов, позволяющие в полной мере использовать потенциал растений [5-7].

Необходимо было повысить процент завязываемости мелкозерновых растений при межсортовой гибридизации и этому способствовали различные техники ее проведения [8]. Защемление рыльца цветков проса и кастрация водой являются наиболее эффективными и практичными [9]. Ручная кастрация, т.е. выщипывание пыльников вручную при помощи пинцета требует больших затрат труда. Кастрация фитогормонами (гиббереллином, 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой и т.д.) признана как менее трудоемкая [10].

Цель работы – оценка результативности искусственной принудительной гибридизации проса посевного с различными способами кастрации цветков: ручная, водно-термическая и химическая кастрация.

Материалы и методы исследования. Опыты проводили в полевых условиях НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева. Коллекция была посеяна в селекционном севообороте по

предшественнику яровая пшеница. Посев коллекции проводился ручным способом во второй декаде мая, площадь делянки 1 м^2 , расположение делянок систематическое. В исследовательской работе использовали несколько методов кастрации: кастрация при помощи пинцета или ручная, водно-термическая и химическая кастрация [11]. Перед проведением скрещивания заготавливали специальные изоляторы из пергаментной бумаги.

Ручная кастрация: техника скрещивания проса с использованием ручной кастрации и принудительного опыления очень трудоемка. Для ручной кастрации брали молодые хорошо развитые колоски рано утром на 2-й день после начала цветения метелки. Кастрировали верхние цветки тонким гладким пинцетом в момент раскрытия цветковых чешуй после удаления слаборазвитых, цветущих и отцветших цветков с оставлением в метелке лишь 5-6 колосков. При кастрации между колосковыми чешуями начавшего открываться цветка вставляли сжатый пинцет, разжимая его, раздвигали в стороны цветковые чешуи. Указательным пальцем придерживали пленки раскрытыми и поочередно отрывали все три тычинки, не повреждая перистого рыльца. После выщипывания пыльников с помощью пинцета, кастрированная метелка еще раз просматривалась (рисунок 1).



Рисунок 1 – Ручная кастрация проса

При опылении открывали изолятор сверху и наносили метелку. Для учета в изоляторе записывали номер с указанием родительских форм. Выполняли его простым встряхиванием цветущей отцовской метелки над кастрированными цветками. Опыленные метелки заключали в пергаментные изоляторы [13].

Водно-термическая кастрация: водную термическую кастрацию осуществляли, окуная метелки периодически на 5 мин в воду температурой $50-60^{\circ}\text{C}$, после этого пыльца погибает, а рыльце остается жизнеспособным (рисунок 2) [13].



Рисунок 2 – Водно-термическая кастрация проса

Для проведения кастрации химическим методом брали водный раствор с концентрацией 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4 Д) – 2,5 %. Опрыскивание метелок проводили согласно методике в фазе полного выметывания (рисунок 3) [14].



Рисунок 3 – Химическая (2,5%-ный водный раствор 2,4 Д) кастрация проса

При водно-термической и химической кастрации опыление проводили на следующий день кастрации после высыхания метелки и в качестве контрольного варианта оставляли обработанные метелки без опыления для подтверждения гибридной природы зерновок, полученных от скрещиваний.

Результаты и обсуждение. При составлении плана гибридизации пары подбирают с учетом эколого-географических групп. Одним из компонентов скрещивания служит местный районированный или перспективный сорт, хорошо приспособленный к данной зоне, другим – инорайонный материал, представляющий интерес как источник какого-нибудь

ценного признака [15]. Поэтому в качестве одной из родительских форм использовали сорта, приспособленные к местным почвенно-климатическим условиям или включенные в Госреестр Казахстана. Кастрацию проводили разными способами для определения наиболее эффективного метода получения гибридных зерновок. В период массового цветения с 7 до 10 часов проводили ручную кастрацию. Опыление проводили на следующий день путем открытия цветка и нанесения пыльцы отцовской формы на рыльце пестика. С помощью ручной кастрации проведено 13 комбинаций скрещиваний (рисунок 4).

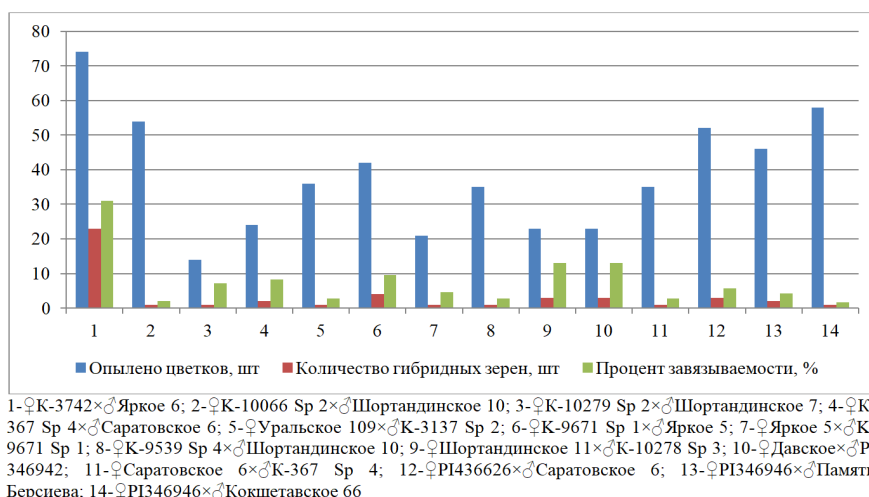


Рисунок 4 – Результаты гибридизации с помощью ручной кастрации коллекции проса

Гибридные зерновки собирали в зависимости от сорта в разные сроки после наступления физиологической зрелости семян. Полученные данные показывают, что завязываемость зерновок варьировала от 1,7% до 31%. Больше гибридных зерен завязывалась в комбинации: ♀ K-3742 × ♂ Яркое 6 - 31%. В результате гибридизации зарубежных сортов проса с сортами казахстанской селекции было составлено 13 комбинаций в которых опылили 537 завязей. В результате образовалось 47 фертильных гибридных зерновок, но процент завязываемости был на уровне 7,8 %

При химической кастрации метелки опрыскивали 2,5%-ной 2,4 Д. По сравнению с ручной кастрацией, химическая кастрация дала возможность получить достаточное количество гибридных зерен (рисунок 5).

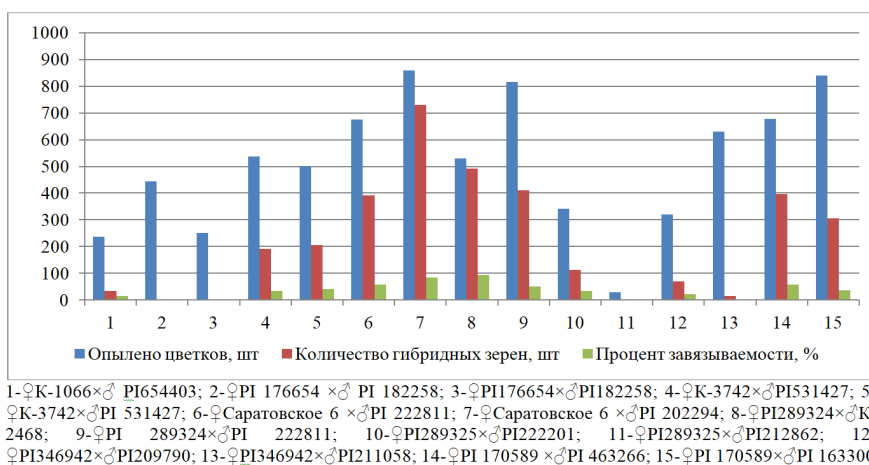


Рисунок 5 – Результаты гибридизации методом химической кастрации

Для достижения 100 % стерилизации андроеца необходимо расходовать 5-7 мл раствора. Химическая кастрация показала высокий результат получения гибридов, средний процент

завязываемости семян – 43,6 %, но, не смотря на полученные результаты 2,4 Д вызвало некоторое снижение завязываемости семян на обработанных растениях. В комбинациях ♀ PI 176654 × ♂ PI 182258 и ♀ PI176654 × ♂ PI182258 завязываемости семян не произошло. Всего из произведенных 15 комбинаций опылено 7690 цветков и получено 3355 гибридных зерен. Больше гибридных зерен завязывалось в комбинациях: ♀ Саратовское 6 × ♂ PI 202294 и ♀ PI289324 × ♂ К-2468, 85% и 93% соответственно.

С помощью термокастрации всего опылено 5236 цветков из 12 комбинации и получено 1216 гибридных семян (рисунок 6).

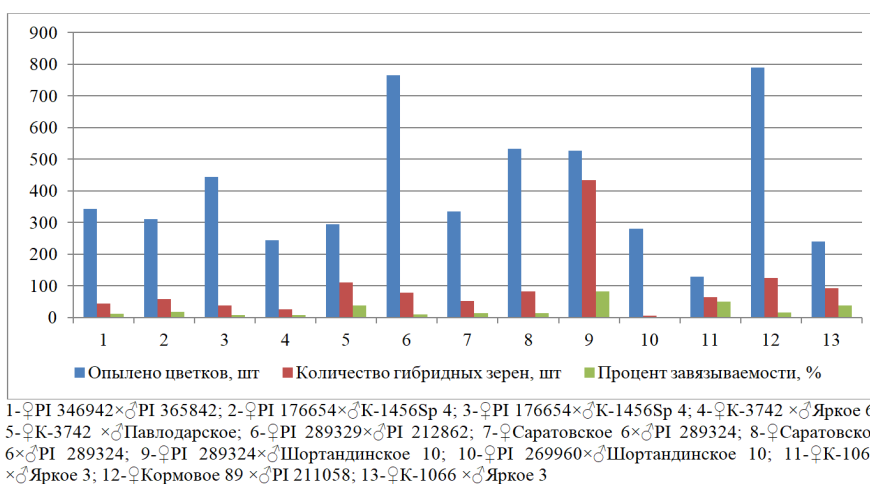


Рисунок 6 – Результаты гибридизации методом водно-термической кастрации

При этом завязываемость зерновок составила от 8,5% до 82%. Наибольшее количество семян завязалось у комбинации ♀ PI 289324 × ♂ Шортандинское 10 – 82%. Процент успешного завязывания варьировал от 2,5 до 82.

Анализ результатов по искусственной принудительной гибридизации с различными способами кастрации цветков показывает, что высокая завязываемость гибридных семян была получена с использованием метода химической кастрации (рисунок 7).



Рисунок 7 – Завязываемость гибридных семян с различными методами стерилизации

Полученные данные показали, что самую высокую продуктивность наблюдается при использовании опрыскивания метелки 2,5% раствором 2,4 Д. При данном методе из 15 комбинации число полученных гибридных семян составило 3355 шт, тогда как при водно-термической кастрации из 12 комбинаций получено всего 1216.

Заключение. Таким образом, использование химического метода кастрации позволило получить достойное количество гибридных зерновок проса, так как процент удачных скрещиваний показал 43,6%. Химическая кастрация при сравнении ее с другими способами позволяет время проведения, что позволит провести кастрацию у большего количества растений, для ручной кастрации потребовалось 15- 20 минут, при термокастрации занимает в среднем 10-15 минут. Все полученные гибридные зерновки на основе искусственной

принудительной гибридизации с различными способами кастрации цветков (ручная, водно-термическая и химическая кастрация) представляет ценный генетический материал по созданию устойчивых генотипов для отечественной селекции проса.

Список литературы

- 1 Baltensperger D.D. "Progress with proso, pearl and other millets" in Trends in New Crops and New Uses, eds J. Janick and A. Whipkey / Baltensperger D.D. – Alexandria: VA:ASHS Press- 2002. - P. 100-103.
- 2 Kimata M., Negishi M. Geographical distribution of proso millet, *Panicum miliaceum* L. on iodostarch and phenol reactions with special references to anorthern propagation route in to Japanese Islands // Environ. Edu. Stud. - 2002. - V. 12. - P. 15-22.
- 3 Никифорова И.Ю. Оценка генофонда проса посевного применительно к задачам селекции в условиях лесостепной зоны Среднего Поволжья: автореферат на соис.уч. степени к.с.-х.н. / Никифорова И.Ю. – Казань, 2011. - 25 с.
- 4 Цыганков И.Г., Цыганков В.И., Цыганкова М.Ю. Просо в сухостепной зоне Западного Казахстана. // Известия Оренбургского ГАУ. - 2006. - № 2 (10). - С.91-95.
- 5 Сидоренко В.С., Бобков С.В., Котляр А.И., Гуринович С.О., Старикова Ж.В. Ареал проса посевного в России // Земледелие. - 2012. - №5. - С. 9-12.
- 6 Сидоренко В.С., Вилонев С.Д., Старикова Ж.В. Новые методы создания и использования признаковых коллекций проса // Роль новых направлений селекции в повышении эффективности растениеводства: Материалы Всероссийской науч.-практ. конференции, ОрелГАУ, Орел, 2009. – С. 49-54.
- 7 Зеленов А.В., Неймышева А.Н., Смутнев П.А. Достижения селекции проса в сухостепной зоне Нижнего Поволжья // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. - 2017. - № 2 (46). - С.79-85.
- 8 Fehr W.R., Hardley H.H. Hybridization of crop plants / Fehr W.R., Hardley – ASA, Madison, WI., - 1980. - P.105-131.
- 9 Ильин, В. А. Пути и методы селекции проса на Юго-Востоке // Сел. и сем. - 1960. - № 2. - С. 54-57.
- 10 Яшовский, И. В. Результаты опытов по разработке новой методики скрещивания проса // Науч. тр. Укр. НИИ земледелия. - 1960. - Т. 10. Вып. 2. - С. 132-140.
- 11 Рысбекова А.Б., Жирнова И.А., Жакенова А.Е., Есенбекова Г.Т., Дюсибаева Э.Н., Сейтхожаев А.И., Кемалов М.Б., Тилләбек А., Төлеуіш Б., Сафиуллаева Д.Ф. Сравнительная оценка эффективности методов гибридизации проса посевного (*Panicum miliaceum* L.) // «Advances in Science and Technology». Сборник статей XIX международной научно-практической конференции Москва: «Научно-издательский центр «Актуальность. РФ», - 2019. - С.3-5. ISBN 978-5-6042299-7-2.
- 12 Дорофеев В.Ф., Лаптев Ю.П., Чекалин Н.М. Цветение, опыление и гибридизация растений / В.Ф. Дорофеев, Ю.П. Лаптев, Н.М. Чекалин. М.: ВО «Агропромиздат», 1990 г.
- 13 Агафонов Н.П., Курцева А.Ф. Методические указания. Изучение мировой коллекции проса / Под ред. Г.Е. Шмараяева. - Л.: ВИР, - 1988. - 30 с.
- 14 Коновалов Ю.Б., Долгодворова Л.И., Степанова Л.В. и др. Частная селекция полевых культур / Под ред. Ю.Б. Коновалова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 543 с.: ил. – (Учебники и учеб.пособия для студентов высш.учеб. заведений)
- 15 Сидоренко В.С. Новые методы создания и использования признаковых коллекций проса // Роль новых направлений селекции в повышении эффективности растениеводства: материалы Всероссийской науч.-практ.конференции, Орел ГАУ. - Орел, - 2009. - С. 49-54.

И.А. Жирнова, А.Б. Рысбекова, А.Е. Жакенова, Э.Н. Дюсибаева, А.И. Сейтхожаев

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

Егістік тарының (*Panicum miliaceum* L.) еріксіз жасанды будандастыру тәсілдерінің нәтижелілігін бағалау

Аңдатпа. Берілген мақалада егістік жағдайда кәдімгі тарының (*Panicum miliaceum* L.) еріксіз жасанды будандастыру тиімділігінің бағалау жөнінде салыстырмалы мәліметтері ұсынылған. Зерттеу жұмысында аталықсыздандырудың бірнеше әдістері қолданылды: қолмен, яғни пинцетті пайдаланумен, сулы-термиялық және химиялық әдістер. Алынған мәліметтер бойынша будандастырудың жоғары тиімділікті шашақтарын 2,5%-бен 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылының ерітіндісімен шашу арқылы химиялық аталықсыздандырумен жоғары нәтиже көрсетті. Берілген тәсілді қолдану 15 комбинациядан 3355 дана будандық дөңдерді алуға мүмкіндік берді. Бұнда дән байланым пайызы орташа 43,6 % құрады. Бұл көрсеткіш қолмен жасалған және сулы- термиялық аталықсыздандырудан сәйкесінше 83,2% және 50,9 % жоғары болды, әрі аталған тәсілдер әлдеқайда ауыр және шығыны көп болып табылады.

Түйін сөздер. тары, коллекция, будандастыру, аталықсыздандыру әдістері, тозаңдандыру.

I.A.Zhirnova., A.B.Rysbekova., E.N.Dyussibayeva., A.Ye.Zhakenova., A.I.Seitkhozhayev

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

Evaluation of the effectiveness of artificial forced hybridization methods for proso millet (*Panicum miliaceum* L.)

Abstract. In this article presents the comparative data on assessing the effectiveness of artificial forced hybridization of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) in the field conditions. In the research work, several castration methods were used: castration with tweezers or manual, water-thermal and chemical. According to the data, high hybridization performance was obtained using chemical castration, i.e. spraying panicles with a 2.5% aqueous solution of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Using this method allowed to obtain 3355 pieces of hybrid seeds from 15 combinations, while the percentage of seed set on average was 43.6%. This indicator is higher than manual castration and water-thermal castration by 83.2% and 50.9%, respectively; in addition, this method is the least labor-intensive.

Keywords. proso millet, collection, hybridization, castration methods, pollination.

References

- 1 Baltensperger D.D. Progress with proso, pearl and other millets" in Trends in New Crops and New Uses, eds J.Janick and A.Whipkey (Alexandria, VA:ASHS Press, 2002, P.100-103).
- 2 Kimata M., Negishi M. Geographical distribution of proso millet, *Panicum miliaceum* L. on iodostarch and phenol reactions with special references to anorthern propagation routein to Japanese Islands, Environ. Edu. Stud, V. 12, 15-22 (2002).
- 3 Nikiforova I.Ju. Ocenka genofonda prosa posevnogo primenitel'no k zadacham selekcii v uslovijah lesostepnoj zony Srednego Povolzh'ja [Assessment of the gene pool of sowing millet in relation to breeding problems in the conditions of the forest-steppe zone of the Middle Volga] Avtoreferat na sois.uch.stepeni k.s.-h.n. Kazan', 2011. - 25 s. [in Russian]
- 4 Tsygankov I.G., Tsygankov V.I., Tsygankova M.Yu. Proso v suhostepnoi zone Zapadnogo Kazakstana [Millet in the dry steppe zone of Western Kazakhstan] // Izvestiya Orenburgskogo Universiteta [News of the Orenburg State Agrarian University], 2006. - N. 2 (10). - S. 91-95. [in Russian]
- 5 Sidorenko V.S., Bobkov S.V., Kotljar A.I., Gurinovich S.O., Starikova Zh.V. Areal prosa posevnogo v Rossii [The area of millet sowing in Russia] Zemledelie [Agriculture], 2012. [in Russian]
- 6 Sidorenko, V.S. Novye metody sozdaniya i ispol'zovaniya priznakovyh kolekcij prosa [New methods for creating and using featured millet collections]. Rol' novyh napravlenij selekcii v povyshenii jeffektivnosti rastenievodstva. Materialy Vserossijskoj nauch.-prakt. Konferenci I [Materials of the All-Russian scientific-practical. conferences]. Orel, 2009, pp. 49-54. [in Russian]
- 7 Zelenev A.V., Nejmysheva A.N., Smutnev P.A. Dostizheniya selekcii prosa v suhostepnoj zone nizhnego povolzh'ja achievements [Achievements of millet selection in the dry steppe zone of the Lower Volga], Izvestiya nizhnevolzhskog o agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie [Bulletin of the Lower Volga Agricultural University: science and higher professional education], 2 (46), 79-85. [in Russian]
- 8 Fehr W.R. Hardley H.H. Hybridization of crop plants, ASA, Madison, WI., 105-131 (1980).
- 9 Ilin V.A. Puti i metody selekcii prosa na Ugo-Vostokey [Ways and methods of millet selection in the Southeast], Selectsija i semenovodstvo [Selection and seed production], 2. 54-57 (1690).
- 10 Jashovskij, I. V. Rezul'taty opytov po razrabotke novoj metodiki skreshhivaniya prosa [The results of experiments to develop a new method for crossbreeding millet], Nauch. trudy. Ukr. NII zemledelija [Scientific works. Ukr. Research Institute of Agriculture], 2 (10), 132-140 (1960). [in Russian]
- 11 Rysbekova A.B., Zhirnova I.A., Zhakenova A.E., Esenbekova G.T., Djusibaeva Je.N., Sejtchozhaev A.I., Kemalov M.B., Tillabek A., Toleuish B., Safipullaeva D.F. Sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti metodov gibridizacii prosa posevnogo (*Panicum miliaceum* L.) [Comparative evaluation of the effectiveness of hybridization methods for millet sowing (*Panicum milia* L.)], «Advances in Science and Technology», Sbornik statej XIX mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii Moskva [Collection of articles of the XX International Scientific and Practical Conference Moscow]: «Nauchno-izdatel'skij centr «Aktual'nost'. RF», 3-5 (2019). ISBN 978-5-6042299-7-2. [in Russian]
- 12 Dorofeev V.F., Laptev Ju.P., Chekalin N.M. Cvetenie, opylenie i gibridizacija rastenij [Flowering, pollination and hybridization of plants], Agropromizdat, Moskva, 1990. [in Russian]
- 13 Agafonov N.P., Kurceva A.F. Izuchenie mirovoj kolekcii prosa [Exploring the world collection of millet], Metodicheskie ukazaniya Pod red. G.E. Shmaraeva, (VIR, Leningrad, 1988). [in Russian]
- 14 Konovalov Ju.B., Dolgodvorova L.I., Stepanova L.V. i dr. Chastnaja selekcija polevyh kul'tur, Pod red. Ju.B. Konovalova [Field crop selection, Ed. Yu. B. Konovalova], -(Agropromizdat, Moscow, 1990). [in Russian]
- 15 Sidorenko, V.S. Viljunov S.D., Starikova Zh.V. Novye metody sozdaniya i ispol'zovaniya priznakovyh kolekcij prosa [New methods for creating and using featured millet collections], Rol' novyh napravlenij selekcii v povyshenii jeffektivnosti rastenievodstva: materialy Vserossijskoj nauch.-prakt.konferencii [The role of new breeding trends in increasing the efficiency of crop production: materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference], Orel, 2009. pp. 49-54. [in Russian]

Сведение об авторах:

Жирнова И.А. - магистр агрономии, PhD докторант кафедры земледелие и растениеводства Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина, пр. Женис 62, Нур-Султан, Казахстан.

Рысбекова А.Б. - кандидат биологических наук, ассоциированный профессор кафедры земледелие и растениеводства Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина, пр. Женис 62, Нур-Султан, Казахстан.

Жакенова А.Е. - магистр сельскохозяйственных наук, ассистент кафедры земледелие и растениеводства Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина, С.Сейфуллина, пр. Женис 62, Нур-Султан, Казахстан.

Дюсипбаева Э.Н. - PhD, ассистент кафедры земледелие и растениеводства Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина, пр. Женис 62, Нур-Султан, Казахстан.

Сейтхожаев А. И. - доктор биологических наук, профессор кафедры земледелие и растениеводства Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина, пр. Женис 62, Нур-Султан, Казахстан.

Zhirnova I. A. - Master of Agronomy, PhD Student of the Department of Agriculture and Plant Growing of the S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Zhenis Avenue 62, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Rysbekova A.B. - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Agriculture and Plant Growing of the S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Zhenis Avenue 62, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Zhakenova A.E. - Master of Agronomy, Assistant of the Department of Agriculture and Plant Growing of the S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Zhenis Avenue 62, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Dyusibaeva E.N. - PhD, Assistant of the Department of Agriculture and Plant Growing of the S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Zhenis Avenue 62, Nur-Sultan city, Kazakhstan.

Seitkhozhayev A.I. - Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Agriculture and Plant Growing of the S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Zhenis Avenue 62, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 24.01.2020

«Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы» журналында мақала жариялау ережесі

1. Журнал мақсаты. Биохимия, молекулалық биология, биотехнология, биоинформатика, вирусология, биофизика, биоинженерия, физиология, ботаника, зоология, эволюциялық биология, генетика, микробиология, биомедицина салалары бойынша мұқият тексеруден өткен ғылыми құндылығы бар мақалалар жариялау.

2. Журналда мақала жариялаушы автор мақаланың қол қойылған 1 дана қағаз нұсқасын Ғылыми басылымдар бөліміне (редакцияға, мекенжайы: 010008, Қазақстан Республикасы, Нұр-Сұлтан қаласы, Қ. Сәтбаев көшесі, 2, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Бас ғимарат, 402 кабинет) және *eurjourbio@enu.kz* электрондық поштасына PDF, Tex форматтарындағы нұсқаларын жіберу қажет. Мақаланың мәтінінің қағаз нұсқасы мен электронды нұсқасумен бірдей болуы қажет. Мақалалар қазақ, орыс, ағылшын тілдерінде қабылданады. Мақаланың тех форматтындағы үлгісі bulbio.enu.kz журнал сайтында берілген. Сонымен қатар, автор(лар) ілеспе хат ұсынуы керек.

3. Автордың қолжазбаны редакцияға жіберуі мақаланың Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Хабаршысында басуға және, шетел тіліне аударылып қайта басылуына келісімін білдіреді. Автор мақаланы редакцияға жіберу арқылы автор туралы мәліметтің дұрыстығына, мақала көшірілмегендігіне (плагиаттың жоқтығына) және басқа да заңсыз көшірмелердің жоқтығына кепілдеме береді.

4. Мақаланың көлемі 18 беттен аспауға тиіс (6 беттен бастап).

5. Мақаланың құрылымы

ҒТАМРК <http://grnti.ru/>

Автор(лар)дың аты-жөні

Мекеменің толық атауы, қаласы, мемлекеті (егер авторлар әртүрлі мекемеде жұмыс жасайтын болса, онда әр автор мен оның жұмыс мекемесі қасында бірдей белгі қойылу керек)

Автор(лар)дың E-mail-ы

Мақала атауы

Аңдатпа (100-200 сөз; формуласыз, мақаланың атауын мейлінше қайталамауы қажет; әдебиеттерге сілтемелер болмауы қажет; мақаланың құрылысын (кіріспе /мақаланың мақсаты/ міндеттері /қарастырылып отырған сұрақтың тарихы, зерттеу әдістері, нәтижелер/талқылау, қорытынды) сақтай отырып, мақаланың қысқаша мазмұны берілуі қажет).

Түйін сөздер (6-8 сөз не сөз тіркесі. Түйін сөздер мақала мазмұнын көрсетіп, мейлінше мақала атауы мен аннотациядағы сөздерді қайталамай, мақала мазмұнындағы сөздерді қолдану қажет. Сонымен қатар, ақпараттық-ізвестіру жүйелерінде мақаланы жеңіл табуға мүмкіндік беретін ғылым салаларының терминдерін қолдану қажет).

Негізгі мәтін мақаланың мақсаты/ міндеттері/ қарастырылып отырған сұрақтың тарихы, зерттеу әдістері, нәтижелер/талқылау, қорытынды бөлімдерін қамтуы қажет.

Таблица, суреттер – аталғаннан кейін орналастырылады. Әр таблица, сурет қасында оның аталуы болуы қажет. Сурет айқын, сканерден өтпеген болуы керек.

Мақаладағы **формулалар** тек мәтінде оларға сілтеме берілсе ғана нөмірленеді.

Жалпы қолданыста бар **аббревиатуралар** мен **қысқартулардан** басқалары міндетті түрде алғаш қолданғанда түсіндірілуі берілуі қажет. **Қаржылай көмек туралы** ақпарат бірінші бетте көрсетіледі.

Әдебиеттер тізімі

Мәтінде әдібиеттерге сілтемелер тікжақшаға алынады. Мәтіндегі әдібиеттер тізіміне сілтемелердің нөмірленуі мәтінде қолданылуына қатысты жүргізіледі: мәтінде кездескен әдібиетке алғашқы сілтеме [1] арқылы, екінші сілтеме [2] арқылы т.с.с. жүргізіледі. Кітапқа жасалатын сілтемелерде қолданылған беттер де көрсетілуі керек (мысалы, [1, 45 бет]). Жарияланбаған еңбектерге сілтемелер жасалмайды. Сонымен қатар, рецензиядан өтпейтін басылымдарға да сілтемелер жасалмайды (әдібиеттер тізімінің әзірлеу үлгілерін төмендегі мақаланы рәсімдеу үлгісінен қараңыз).

Мақала соңындағы әдібиеттер тізімінен кейін **библиографиялық мәліметтер** орыс және ағылшын тілінде (егер мақала қазақ тілінде жазылса), қазақ және ағылшын тілінде (егер мақала орыс тілінде жазылса), орыс және қазақ тілінде (егер мақала ағылшын тілінде жазылған болса) беріледі.

Авторлар туралы мәлімет: автордың аты-жөні, ғылыми атағы, қызметі, жұмыс орны, жұмыс орнының мекен-жайы, телефон, e-mail – қазақ, орыс және ағылшын тілдерінде толтырылады.

6. Қолжазба мұқият тексерілген болуы қажет. Техникалық талаптарға сай келмеген қолжазбалар қайта өңдеуге қайтарылады. Қолжазбаның қайтарылуы оның журналда басылуына жіберілуін білдірмейді.

7. Редакцияға түскен мақала жабық (анонимді) тексеруге жіберіледі. Барлық рецензиялар авторларға жіберіледі. Автор (рецензент мақаланы түзетуге ұсыныс берген жағдайда) үш күн аралығында қайта қарап, қолжазбаның түзетілген нұсқасын редакцияға қайта жіберуі керек. Рецензент жарамсыз деп таныған мақала қайтара қарастырылмайды. Мақаланың түзетілген нұсқасы мен автордың рецензентке жауабы редакцияға жіберіледі.

8. Төлемақы. Басылымға рұқсат етілген мақала авторларына төлем жасау туралы ескертіледі. Төлем көлемі – ЕҰҰ қызметкерлері үшін 4500 тенге және 5500 тенге басқа ұйым қызметкерлеріне.

Реквизиты:

1)РГП ПХВ "Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева МОН РК

АО "Банк ЦентрКредит"

БИК банка: КСJBKZKX

ИИК: KZ978562203105747338

Кбе 16

Кпн 859- за статью

2)РГП ПХВ "Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева МОН РК АО "Bank RBK"

Бик банка: KINCKZKA

ИИК: KZ498210439858161073

Кбе 16

Кпн 859 - за статью

3) РГП ПХВ "Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева МОН РК АО "ForteBank"

БИК Банка: IRTYKZKA

ИИК: KZ599650000040502847

Кбе 16

Кпп 859 - за статью

4) РГП ПХВ "Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева МОН РК АО "Народный Банк Казахстан"

БИК Банка: HSBKZKX

ИИК: KZ946010111000382181

Кбе 16

Кпп 859.

Для сотрудников ЕНУ - 4500 тенге, для сторонних организаций - 5500 тенге

"За публикацию в Вестнике ЕНУ ФИО автора"

Provision on articles submitted to the journal "Bulletin of L.N. Gumilyov Eurasian National University. BIOSCIENCE Series"

1. Purpose of the journal. Publication of carefully selected original scientific works in the fields of Biochemistry, Molecular Biology, Biotechnology, Bioinformatics, Virology, Biophysics, Bioengineering, Physiology, Botany, Zoology, Evolutionary Biology, Genetics, Microbiology, Biomedicine.

2. An author who wishes to publish an article in a journal must submit the article in hard copy (printed version) in one copy, signed by the author to the scientific publication office (at the address: 010008, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Satpayev St., 2. L.N. Gumilyov Eurasian National University, Main Building, room 402) and by e-mail *eurjourbio@enu.kz* in Word, PDF and Tex format. At the same time, the correspondence between Tex-version, PDF-version and the hard copy must be strictly maintained. Article template in tex-format you can find on the journal web-site *bulbio.enu.kz*. And you also need to provide the cover letter of the author(s).

Language of publications: Kazakh, Russian, English.

3. Submission of articles to the scientific publication office means the authors' consent to the right of the Publisher, L.N. Gumilyov Eurasian National University, to publish articles in the journal and the re-publication of it in any foreign language. Submitting the text of the work for publication in the journal, the author guarantees the correctness of all information about himself, the lack of plagiarism and other forms of improper borrowing in the article, the proper formulation of all borrowings of text, tables, diagrams, illustrations.

4. The volume of the article should not exceed 18 pages (from 6 pages).

5. Structure of the article

GRNTI <http://grnti.ru/>

Initials and Surname of the author (s)

Full name of the organization, city, country (if the authors work in different organizations, you need to put the same icon next to the name of the author and the corresponding organization)

Author's e-mail (s)

Article title

Abstract (100-200 words, it should not contain a formula, the article title should not repeat in the content, it should not contain bibliographic references, it should reflect the summary of the article, preserving the structure of the article - introduction/ problem statement /goals/ history, research methods, results /discussion, conclusion).

Keywords (6-8 words/word combination. Keywords should reflect the main content of the article, use terms from the article, as well as terms that define the subject area and include other important concepts that make it easier and more convenient to find the article using the information retrieval system).

The main text of the article should contain an introduction/ problem statement/ goals/ history, research methods, results / discussion, conclusion. Tables, figures should be placed after the mention. Each illustration should be followed by an inscription. Figures should be clear, clean, not scanned.

In the article, only those **formulas** are numbered, to which the text has references.

All **abbreviations**, with the exception of those known to be generally known, must be deciphered when first used in the text.

Information on **the financial support** of the article is indicated on the first page in the form of a footnote.

References

In the text references are indicated in square brackets. References should be numbered strictly in the order of the mention in the text. The first reference in the text to the literature should have the number [1], the second - [2], etc. The reference to the book in the main text of the article should be accompanied by an indication of the pages used (for example, [1, 45 p.]). References to unpublished works are not allowed. Unreasonable references to unreviewed publications (examples of the description of the list of literature, descriptions of the list of literature in English, see below in the sample of article design).

At the end of the article, after the list of references, it is necessary to indicate bibliographic data in Russian and English (if the article is in Kazakh), in Kazakh and English (if the article is in Russian) and in Russian and Kazakh languages (if the article is English language).

Information about authors: surname, name, patronymic, scientific degree, position, place of work, full work address, telephone, e-mail - in Kazakh, Russian and English.

6. The article must be **carefully verified**. Articles that do not meet technical requirements will be returned for revision. Returning for revision does not mean that the article has been accepted for publication.

7. Work with electronic proofreading. Articles received by the Department of Scientific Publications (editorial office) are sent to anonymous review. All reviews of the article are sent to the author. The authors must send the proof of the article within three days. Articles that receive a negative review for a second review are not accepted. Corrected versions of articles and the author's response to the reviewer are sent to the editorial office. Articles that have positive reviews are submitted to the editorial boards of the journal for discussion and approval for publication.

Periodicity of the journal: 4 times a year.

8. Payment. Authors who have received a positive conclusion for publication should make payment (for ENU employees - 4,500 tenge, for outside organizations - 5,500 tenge).

Положение о рукописях, представляемых в журнал «Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н.Гумилева. Серия Биологические науки»

1. Цель журнала. Публикация тщательно отобранных оригинальных научных работ по следующим направлениям: биохимия, молекулярная биология, биотехнология, биоинформатика, вирусология, биофизика, биоинженерия, физиология, ботаника, зоология, эволюционная биология, генетика, микробиология, биомедицина.

2. Автору, желающему опубликовать статью в журнале необходимо представить рукопись в твердой копии (распечатанном варианте) в одном экземпляре, подписанном автором в Отдел научных изданий (по адресу: 010008, Казахстан, г.Нур-Султан, ул. Сатпаева, 2, Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Учебно-административный корпус, каб. 349) и по e-mail eurjourbio@enu.kz в формате Tex и PDF. При этом должно быть строго выдержано соответствие между Tex-файлом, PDF-файлом и твердой копией. Шаблон статьи в формате tex приведен на сайте журнала bulbio.enu.kz. Также автору(ам) необходимо предоставить сопроводительное письмо.

Язык публикаций: казахский, русский, английский.

3. Отправление статей в редакцию означает согласие авторов на право Издателя, Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева, издания статей в журнале и переиздания их на любом иностранном языке. Представляя текст работы для публикации в журнале, автор гарантирует правильность всех сведений о себе, отсутствие плагиата и других форм неправомерного заимствования в рукописи, надлежащее оформление всех заимствований текста, таблиц, схем, иллюстраций.

4. Объем статьи не должен превышать 18 страниц (от 6 страниц).

5. Схема построения статьи

ГРНТИ <http://grnti.ru/>

Инициалы и Фамилию автора(ов)

Полное наименование организации, город, страна (если авторы работают в разных организациях, необходимо поставить одинаковый значок около фамилии автора и соответствующей организации)

E-mail автора(ов)

Название статьи

Аннотация (100-200 слов; не должна содержать формулы, не должна повторять по содержанию название статьи; не должна содержать библиографические ссылки; должна отражать краткое содержание статьи, сохраняя структуру статьи – введение/ постановка задачи/ цели/ история, методы исследования, результаты/обсуждения, заключение/выводы).

Ключевые слова (6-8 слов/словосочетаний. Ключевые слова должны отражать основное содержание статьи, использовать термины из текста статьи, а также термины, определяющие предметную область и включающие другие важные понятия, позволяющие облегчить и расширить возможности нахождения статьи средствами информационно-поисковой системы).

Основной текст статьи должен содержать введение/ постановку задачи/ цели/ историю, методы исследования, результаты/обсуждение, заключение/выводы.

Таблицы, рисунки необходимо располагать после упоминания. Каждой иллюстрации должна следовать надпись. Рисунки должны быть четкими, чистыми, несканированными.

В статье нумеруются лишь те **формулы**, на которые по тексту есть ссылки.

Все **аббревиатуры и сокращения**, за исключением заведомо общеизвестных, должны быть расшифрованы при первом употреблении в тексте.

Сведения о **финансовой поддержке** работы указываются на первой странице в виде сноски.

Список литературы

В тексте ссылки обозначаются в квадратных скобках. Ссылки должны быть пронумерованы строго по порядку упоминания в тексте. Первая ссылка в тексте на литературу должна иметь номер [1], вторая - [2] и т.д. Ссылка на книгу в основном тексте статьи должна сопровождаться указанием использованных страниц (например, [1, 45 стр.]). Ссылки на неопубликованные работы не допускаются. Нежелательны ссылки на рецензируемые издания (примеры описания списка литературы, описания списка литературы см. ниже в образце оформления статьи).

В конце статьи, после списка литературы, необходимо указать **библиографические данные** на русском и английском языках (если статья оформлена на казахском языке), на казахском и английском языках (если статья оформлена на русском языке) и на русском и казахском языках (если статья оформлена на английском языке).

Сведения об авторах: фамилия, имя, отчество, научная степень, должность, место работы, полный служебный адрес, телефон, e-mail – на казахском, русском и английском языках.

6. Рукопись должна быть **тщательно выверена**. Рукописи, не соответствующие техническим требованиям, будут возвращены на доработку. Возвращение на доработку не означает, что рукопись принята к опубликованию.

7. Работа с электронной корректурой. Статьи, поступившие в Отдел научных изданий (редакция), отправляются на анонимное рецензирование. Все рецензии по статье отправляются автору. Авторам в течение трех дней необходимо отправить корректуру статьи. Статьи, получившие отрицательную рецензию, к повторному рассмотрению не принимаются. Исправленные варианты статей и ответ автора рецензенту присылаются в редакцию. Статьи, имеющие положительные рецензии, представляются редколлегии журнала для обсуждения и утверждения для публикации.

Периодичность журнала: 4 раза в год.

8.Оплата. Авторам, получившим положительное заключение к опубликованию необходимо произвести оплату (для сотрудников ЕНУ – 4500 тенге, для сторонних организаций – 5500 тенге).

Мақаланы рәсімдеу үлгісі

IRSTI 27.25.19

G.S. Mukiyanova¹, A.Zh. Akbassova¹, J. Maria Pozo², R.T. Omarov¹

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

² *Estacion Experimental del Zaidon (CSIC), Granada, Spain*

(E-mail: gmukiyanova@gmail.com, a.j.alua@gmail.com, mjpozo@eez.csic.es, romarov@gmail.com)

Tbsv encoded capsid protein p41 triggers resistance in solanum lycopersicum

Abstract: Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* plants with wild type Tomato bushy stunt virus (TBSV) is influenced by expression of protein P19, which is a potent RNAi suppressor. The capsid protein (CP) P41 is required for virion formation and facilitates long distance movement of the virus. Along with RNAi suppression, P19 protein is involved in the development of severe disease symptoms in *N. benthamiana* and elicitation of Hypersensitive Response (HR) in tobacco. Our results show that wild type TBSV infection of *Solanum lycopersicum* (cv. Money maker) triggers resistance to the virus. Despite detectable accumulation levels of P19 protein in leaf and root tissues, the infection was not accompanied with obvious disease symptoms. Contrastingly, inoculation with TBSV mutant, lacking capsid protein P41 demonstrated susceptibility to TBSV. Moreover, Chl-FI analysis of plants infected with virus exhibited significant changes in metabolism. Our data suggests that in response to CP expression tomato plants have evolved defense mechanisms to resist viral infection.

Keywords: Tomato bushy stunt virus, capsid protein, virions, resistance, *Solanum lycopersicum*.

TEXT OF THE ARTICLE

- **The main text** of the article should be divided into clearly defined and numbered sections (subsections). Subsections must be numbered 1.1, 1.2, etc. Required sections of the article:

1. Introduction should supply the rationale of the investigation and its relation to other works in the same scope.

2. Materials and methods should be detailed to enable the experiments to be repeated. Do not include extensive details, unless they present a substantially new modification.

3. Results section may be organized into subheadings. In this section, describe only the results of the experiments. Reserve extensive interpretation for the Discussion section. Avoid combining Results and Discussion sections.

4. Discussion should provide an interpretation of the results in relation to previously published works.

5. Conclusion The main conclusions of the study can be presented in a short section "Conclusions".

6. Author contributions should indicate the individual contribution of authors to the manuscript.

7. Acknowledgments should be brief and should precede the References.

8. Funding the source of any financial support received for the work being published must be indicated.

Ethics approval Manuscripts reporting animals and/or human studies must that relevant Ethics Committee or Institutional Review Board include provided or waived approval.

Tables

Tables must be placed next to the relevant text in the article. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes above the table body.

ТАВЛИЦА 1 – Title of table

| Prime | Nonprime numbers |
|------------------------------------|------------------------|
| 2, 3, 5, 7, 11, 13, 17, 19, 23, 29 | 4, 6, 8, 9, 10, 12, 14 |

Figures

Figures must be saved individually and separate to text. All figures must be numbered in the order in which they appear in the article (e.g. figure 1, figure 2). In multi-part figures, each part should be labeled (e.g. figure 1(a), figure 1(b)). Figures must be of sufficiently high resolution (minimum 600 dpi). It is preferable to prepare figures in black-and-white or grey color scale. Figures should be clear, clean, not scanned (PS, PDF, TIFF, GIF, JPEG, BMP, PCX).



РИСУНОК 1 – Title of figure

References

- 1 Alazem M., Lin N. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions // Mol Plant Pathol. - 2015. - V. 16, № 5. - P. 529-40. doi: ... (if available) - **Journal article**
- 2 Abimuldina ST, Sydykova GE, Orazbaeva LA Functioning and development of the infrastructure of sugar production // Innovation in the agricultural sector of Kazakhstan: Mater. Intern. Conf., Vienna, Austria, 2009. - Almaty, 2010. - P. 10-13 - **Proceedings of the conferences**
- 3 Kurmukov A.A. Angioprotective and lipid-lowering activity of leukomycin. - Almaty: Bastau, 2007. - S. 3-5 - **newspaper articles**
- 4 Sokolovsky D.V. The theory of synthesis of self-aligning cam mechanisms of drives [Elektron.resurs]. - 2006. - URL: <http://bookchamber.kz/stst-2006.htm> (reference date: 12.03.2009) - **Internet sources**
- 5 Petushkova G.I. Costume Design: Textbook. for universities / G.I. Petushkova. - Moscow: Academy, 2004. - 416 p. - **the book**
- 6 Кусаинова А.А., Булгакова О.В., Берсимбаев Р.И. Роль miR125b в патогенезе рака легкого // Прикладные информационные аспекты медицины. - 2017. -Т. 20. - №4. -С. 86-92. - **Journal article**

Г.С. Мукиянова¹, А.Ж. Акбасова¹, М.Х. Позо², Р.Т. Омаров¹

¹ Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

² Испаниялық ұлттық зерттеу институты, Гранада, Испания

Solanum lycopersicum өсімдігінде резистенттік жауаптың tomato bushy stunt virus (tbsv) вирусының р41 капсидтік ақуызымен белсендірілуі

Аннотация. Tomato bushy stunt virus (TBSV) вирусымен кодталатын P19 ақуызы РНҚ интерференцияның қуатты супрессоры болып табылады және Nicotiana benthamiana өсімдіктерінің вируспен жұқтырылуында маңызды рөл атқарады. P19 ақуызының экспрессиясы вируспен зақымдануы айқын көрініс береді де, өсімдіктің толық коллапсына әкеліп соқтырады. Сонымен қатар супрессорлық P19 ақуызы Nicotiana tabacum өсімдігінде гиперсезімталдық реакциясын белсендіруге жауапты. Вирустың P41 капсидтік ақуызы вирион құрылымын қалыптастырып, өсімдік бойымен таралауын қамтамасыз етеді. Алынған зерттеу нәтижелері TBSV вирусының жабайы типінің инфекциясы Solanum lycopersicum (Money maker сұрыбы) қызанақ өсімдігінде вирусқа қарсы төзімділік жауабын тудыратынын анықтады. Өсімдіктің тамыр және жапырақ ұлпасында P19 ақуызының жинақталуына қарамастан вируспен зақымдалудың сыртқы көрінісі нашар байқалды. Алайда, Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) сараптамасы вируспен зақымдалған өсімдіктерде жасушаішілік метаболизмінің өзгеруін анықтады. Ал вирустың капсидтік ақуызы экспрессияланбайтын

мутантпен инфекция тудырғанда, қызанақ өсімдіктері жоғары сезімталдық көрсетіп, жүйелік некрозға ұшырады. Зерттеу нәтижелері қызанақтың Money maker сұрыбында TBSV вирусына қарсы қорғаныс механизмдері вирустық капсидтік ақуыз P41-ді тану арқылы белсендірілетінін көрсетеді.

Түйін сөздер: Tomato bushy stunt virus (TBSV), вирус, капсидтік ақуыз, вирион, Solanum lycopersicum, резистенттілік, РНК-интерференция.

Г.С. Мукиязнова¹, А.Ж. Акбасова¹, М.Х. Позо², Р.Т. Омаров¹

¹ *Бразильский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.*

² *Испанский национальный исследовательский центр, Гранада, Испания*

Капсидный белок p41 вируса tomato bushy stunt virus (tbsv) активизирует резистентность у растений вида solanum lycopersicum

Аннотация. Кодированный вирусом Tomato bushy stunt virus (TBSV), белок P19 является мощным супрессором РНК интерференции и играет важную роль при инфекции растений Nicotiana benthamiana, которая характеризуется ярко выраженными симптомами заболевания и системным коллапсом. Кроме того, белок P19 является элиситором гиперчувствительного ответа у Nicotiana tabacum. Капсидный белок вируса P41 формирует вирионы и способствует развитию системной инфекции. Полученные нами данные показали, что при инфекции диким типом TBSV у растений вида Solanum lycopersicum (сорт Money maker) активизируется резистентный ответ. Несмотря на системную аккумуляцию белка супрессора P19 в листьях и корнях, у растений не проявляются видимые симптомы заболевания. Однако анализ Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) показал, что в инфицированных вирусом растениях происходят значительные изменения метаболизма. Более того, инфекция растений мутантом TBSV по капсидному белку приводит к системному некрозу гибели растений. Полученные данные указывают на то, что у томатов выработаны защитные механизмы в ответ на экспрессию капсидного белка P41 вируса TBSV.

Ключевые слова: Tomato bushy stunt virus (TBSV), капсидный белок, вирион, Solanum lycopersicum, резистентность, РНК-интерференция.

Список литературы

- 1 Alazem M., Lin N. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions, Mol Plant Pathol, **16**(5), 529-40(2015). doi: ... (if available) - **Journal article**
- 2 Abimuldina ST, Sydykova GE, Orazbaeva LA Functioning and development of the infrastructure of sugar production, Innovation in the agricultural sector of Kazakhstan: Mater. Intern. Conf., Vienna, Austria, 2009. Almaty, 2010. P. 10-13 - **Proceedings of the conferences**
- 3 Kurmukov A.A. Angioprotective and lipid-lowering activity of leukomycin. Almaty. Newspaper "Bastau", 2007. P. 3-5 - **newspaper articles**
- 4 Sokolovsky D.V. The theory of synthesis of self-aligning cam mechanisms of drives [Elektron.resurs]. 2006. Available at: <http://bookchamber.kz/stst-2006.htm> (Accessed: 12.03.2009) - **Internet sources**
- 5 Petushkova G.I. Costume Design: Textbook. for universities (Academy, Moscow, 2004, 416 p.) - **the book**
- 6 Kusainova A., Bulgakova O., Bersimbaev R. Rol miR125b v patogeneze raka legkogo [Role of miR125b in the pathogenesis of lung cancer], Prikladnyie informatsionnyie aspektyi mediciny [Applied information aspects of medicine], **20**(4), 86-92, (2017). [in Russian] - **Journal article**

Authors information:

Мукиязнова Г.С.- PhD докторант, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Ақбасова А.Ж.- аға оқытушы, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Позо М.Х.- ғылыми қызметкер, Испаниялық ұлттық зерттеу институты, Гранада, Испания.

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

Mukiyanova G.S.- PhD student, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.
Akbassova A.Zh - Senior tutor, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.
Maria J. Pozo- Tenured scientist, Estacion Experimental del Zaidon (CSIC), Granada, Spain.
Omarov R. T.- Head od department, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Received 24.01.2020

Редакторы: Р.І. Берсімбай, Р.Т. Омаров

Шығарушы редактор, дизайн: А. Нұрболат

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің
Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы.
- 2020. 1(130) - Нұр-Сұлтан: ЕҰУ. 63-б.
Шартты б.т. - 12,86. Таралымы - 15 дана.
Басуға қол қойылды 30.03.20

Мазмұнына типография жауап бермейді

Редакция мекен-жайы: 010008, Қазақстан Республикасы Нұр-Сұлтан қ.,
Сәтбаев көшес 13.

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