

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**

№3(128)/2019

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, 2019

Nur-Sultan, 2019

Нур-Султан, 2019

Бас редакторы:
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, профессор
Р.І. Берсімбаев (Қазақстан)

Бас редактордың орынбасары:
Р.Т. Омаров, PhD, б.ғ.к.,
профессор (Қазақстан)

Редакция алқасы

Абжалелов А.Б.	б.ғ.д., проф. (Қазақстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, м.ғ.д.(Қазақстан)
Аликулов З.А.	б.ғ.к., проф. (Қазақстан)
Антипов А.Н.	б.ғ.к. (Ресей)
Аскарова Ш.Н.	б.ғ.к., PhD (Қазақстан)
Ау У.	PhD, проф. (АҚШ)
Бисенбаев А.К.	б.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі (Қазақстан)
Высоцкая Л.В.	б.ғ.д., проф. (Ресей)
Закиян С.М.	б.ғ.д., проф. (Ресей)
Изотти А.	PhD, проф. (Италия)
Ильдербаев О.З.	м.ғ.д., проф. (Қазақстан)
Константинов Ю.М.	б.ғ.д., проф. (Ресей)
Кухар Е.В.	б.ғ.д., доцент (Қазақстан)
Масалимов Ж.К.	PhD, б.ғ.к. (Қазақстан)
Моше Саги	PhD, проф. (Израиль)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф. (АҚШ)
Стегний В.Н.	б.ғ.д., проф. (Ресей)
Шустов А.В.	PhD, б.ғ.к. (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: 20 дана

Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ., Қажымұқан к-сі ,12/1,
тел.: +7(7172)709-500 (ішкі 31-428)

Editor-in-Chief
Academician of NAS RK, Doctor of Biological Sciences, Prof.
R.I. Bersimbaev: (Kazakhstan)

Deputy Editor-in-Chief: **R.T. Omarov**, Prof., Candidate of Biological Sciences, PhD (Kazakhstan)

Editorial board

Abzhalelov A.B.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Kazakhstan)
Akilzhanova A.R.	PhD, Doctor of Medical Sciences (Kazakhstan)
Alikulov Z.A.	Prof., Can. of Biological Sciences (Kazakhstan)
Antipov A.N.	Can. of Biological Sciences (Russia)
Askarova Sh.N.	PhD, Can. of Biological Sciences (Kazakhstan)
Au W.	PhD, Prof. (USA)
Bisenbayev A.K.	Doctor of Biological Sciences, Prof, Academician of NAS RK, (Kazakhstan)
Ilderbayev O.Z.	Doctor of Medical Sciences, Prof. (Kazakhstan)
Izzotti A.	PhD, Prof. (Italy)
Konstantinov Yu. M.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Russia)
Kukhar E.V.	Ass. Prof. Doctor of Biological Sciences (Kazakhstan)
Massalimov Zh.K.	PhD, Can. of Biological Sciences (Kazakhstan)
Moshe Sagi	PhD, Prof. (Israel)
Shustov A.V.	PhD, Can. of Biological Sciences (Kazakhstan)
Stegniy V.N.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Russia)
Sarbassov D.D.	PhD, Prof. (USA)
Vycotskaya L.V.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Russia)
Zakiyan S.M.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (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: 20 copies

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

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

Главный редактор:
профессор, д.б.н., академик НАН РК
Р.И. Берсимбай (Казахстан)

Зам. главного редактора: **Р.Т. Омаров**, PhD, к.б.н.,
профессор (Казахстан)

Редакционная коллегия

Абжалелов А.Б.	д.б.н., проф. (Казахстан)
Акильжанова А.Р.	PhD, д.м.н. (Казахстан)
Аликулов З.А.	к.б.н., проф. (Казахстан)
Антипов А.Н.	к.б.н. (Россия)
Аскарлова Ш.Н.	к.б.н., PhD (Казахстан)
Ау У.	PhD, проф. (США)
Бисенбаев А.К.	д.б.н., проф., академик НАН РК (Казахстан)
Высоцкая Л.В.	д.б.н., проф. (Россия)
Закиян С.М.	д.б.н., проф. (Россия)
Изотти А.	PhD, проф. (Италия)
Ильдербаев О.З.	д.м.н., проф. (Казахстан)
Константинов Ю.М.	д.б.н., проф. (Россия)
Кухар Е.В.	д.б.н., доцент (Казахстан)
Масалимов Ж.К.	PhD, к.б.н. (Казахстан)
Моше Саги	PhD, проф. (Израиль)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф. (США)
Стегний В.Н.	д.б.н., проф. (Россия)
Шустов А.В.	PhD, к.б.н. (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: 20 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**

3(128)/2019

МАЗМҰНЫ

<i>Ахметова Д.А., Булгакова О.В.</i> Өкпе обыры патогенезіндегі В (NF-кВ) ядролық факторының рөлі	8
<i>Ержебаева Р.С.</i> Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми - зерттеу институты» ЖШС, Қазақстан, Алматы облысы, Алмалыбақ аул.	24
<i>Бажбаева С.А., Жумадина Ш.М., Бгатова Н.П.</i> Ісіктің қашықтн өсуі жағдайындағы бауырдың лимфалық дренаж жолдарының құрылымы	34
<i>Калиева А.К.</i> Penicillium cycloporium 2-11 штамындағы пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіндегі фосфордың рөлі	42
<i>Кириллов В.Ю., Стихарева Т.Н., Рахимжанов А.Н.</i> Солтүстік Қазақстан аумағында өсетін ерте гүлдейтін шөптесін өсімдіктердің кейбір түрлері, олардың құрамы және қолданылуы	48
<i>Қуанбай Ж.І., Әбиев С.Ә., Тихомиров В.Н., Ишмуратова М.Ю., Адманова Г.Б.</i> Доңызтау флорасының таксономиялық талдауы	59
<i>Разметова А.М., Бгатова Н.П., Жумадина Ш.М.</i> Ісіктің қашықтықтан өсуі жағдайындағы бүйректің құрылымдық ұйымдастырылуы	66
<i>Толеужанова А., Убаскин А., Ахметов К., Ержанов Н., Луньков А., Минаков А., Абылхасымов Т.</i> Павлодар облысы тұзды көлдерінің фитопланктоны	73
<i>Сапарбекова А.А., Латиф А.С., Ахмедова З.Р.</i> Saccharomyces cerevisiae var. boulardii Az-12 ашытқылардың бактерияға қарсы белсенділігін зерттеу	80
<i>Сафронова Н.М., Бабенко О.Н.</i> Көкшетау қаласы төңірегіндегі кейбір жабайы өсімдік түрлерінің гүлдену фенологиясындағы өзгеріс	90
<i>Сутуева Л.Р., Шалахметова Т.М.</i> Мұңай өнімдерімен қоздырылған бақабастардың (<i>Bufo viridis</i>) итшабақтардың морфологиялық бұзушылықтары	100

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

3(128)/2019

CONTENTS

<i>Akhmetova D.A., Bulgakova O.V.</i> The role of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in the pathogenesis of lung cancer	8
<i>Yerzhebayeva R.S.</i> Isolated microspore culture technology of triticale ($\times$ Triticosecale Wittmack)	24
<i>Bakhbayeva S.A., Zhumadina Sh.M., Bgatova N.P.</i> Structure of the pathways of lymphatic drainage in the liver in conditions of remote tumor growth	34
<i>Kalieva A.K.</i> The role of phosphorus in the biosynthesis of <i>Penicillium cyclopium</i> 2-11 pectinase enzymes	42
<i>Kirillov V.Yu., Stikhareva T.N., Rakhimzhanov A.N.</i> Some species of early-flowering herbaceous plants growing on the territory of Northern Kazakhstan, their composition and use	48
<i>Kuanbay Zh.I., Abiyev S.A., Tikhomirov V.N., Ishmuratova M.J., Admanova G.B.</i> Taxonomic analysis of the Dongyztai flora	59
<i>Rakhmetova A.M., Bgatova N.P., Zhumadina Sh.M.</i> Structural organization of the kidney in conditions of distant tumor growth	66
<i>Toleuzhanova A., Ubaskin A., Akhmetov K., Yerzhanov N., Lunkov A., Minakov A., Abylkhasanov T.</i> Phytoplankton of salt lakes of the Pavlodar region	73
<i>Saparbekova A.A., Latif A.S., Ahmedova Z.R.</i> The research of the antibacterial activity of yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i> Az-12	80
<i>Safronova N.M., Babenko O.N.</i> Shifts in flowering phenology of some plant species in the surroundings of Kokshetau city	90
<i>Sutuyeva L.R., Shalakhmetova T.M.</i> Morphological Deformities of Green Toad (<i>Bufo viridis</i>) Tadpoles Caused by Petroleum Products	100

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Ахметова Д.А., Булгакова О.В.</i> Роль ядерного фактора каппа-В (NF-κB) в патогенезе рака легкого	8
<i>Ержебаева Р.С.</i> Технология культуры изолированных микроспор тритикале (× <i>Triticosecale</i> Wittmack)	24
<i>Бахбаева С.А., Жумадина Ш.М., Бгатова Н.П.</i> Структура путей лимфатического дренажа в печени в условиях отдаленного опухолевого роста	34
<i>Калиева А.К.</i> Роль фосфора в биосинтезе пектинлиазных ферментов <i>Penicillium cyclospium</i>	42
<i>Кириллов В.Ю., Стихарева Т.Н., Рахимжанов А.Н.</i> Некоторые виды раннецветущих травянистых растений, произрастающих на территории Северного Казахстана, их состав и использование	48
<i>Куанбай Ж.И., Абиев С.А., Тихомиров В.Н., Ишмуратова М.Ю., Адманова Г.Б.</i> Таксономический анализ флоры Донгызтау	59
<i>Разметова А.М., Бгатова Н.П., Жумадина Ш.М.</i> Структурная организация почки в условиях отдаленного опухолевого роста	66
<i>Толеужанова А., Убаскин А., Ахметов К., Ержанов Н., Луньков А., Минаков А., Абылхасымов Т.</i> Фитопланктон соленых озер Павлодарской области	73
<i>Сапарбекова А.А., Латиф А.С., Ахмедова З.Р.</i> Исследование антибактериальной активности дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i> Az-12	80
<i>Сафронова Н.М., Бабенко О.Н.</i> Сдвиги в фенологии цветения некоторых дикорастущих видов растений в окрестностях города Кокшетау	90
<i>Сутуева Л.Р., Шалахметова Т.М.</i> Морфологические нарушения головастика зеленой жабы (<i>Bufo viridis</i>), вызванные нефтепродуктами	100

БИОЛОГИЯ



МРНТИ 27.25.19

Д.А. Ахметова, О.В. Булгакова

*Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Нур-Султан, Казахстан
(E-mail: dinara.arturovna@gmail.com, ya.summer13@yandex.kz)*

Роль ядерного фактора капша-В (NF-κB) в патогенезе рака легкого

Аннотация: Рак легкого во всем мире занимает лидирующие позиции по частоте распространения и уровню смертности среди злокачественных неоплазий. Развитие и прогрессирование злокачественной опухоли зависят от баланса между выживанием клеток и сигналами клеточной гибели. В качестве основного сигнала выживания клеток выступает ядерный фактор-капша В (NF-κB), играющий ключевую роль в канцерогенезе и устойчивости раковых клеток к химио- и радиотерапии. Недавние исследования продемонстрировали связь между активацией NF-κB сигнального пути и развитием рака легкого. В данном обзоре освещаются современные представления о функциональных особенностях сигнального пути NF-κB и его роли в патогенезе рака легкого.

Ключевые слова: рак легкого, NF-κB, сигналинг, мутации, риск развития рака легкого

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-8-23>

Введение. Рак легкого остается главной причиной смертности среди мужского и женского населения от рака во всем мире [1]. Выделяют 2 основных типа рака легкого: мелкоклеточный (МРЛ) и немелкоклеточный (НМРЛ) [2]. НМРЛ, включающий в себя плоскоклеточный рак, аденокарциному и крупноклеточный рак, является наиболее распространенным видом рака легкого [3]. Основной причиной развития рака легкого является курение [4]. Другой, не менее важной, причиной развития рака легкого является хроническое воздействие радона и продуктов его распада [5]. При взаимодействии табачного дыма с радоном онкогенный эффект последнего увеличивается в 2-10 раз [5]. Кроме того, многие исследования показали высокую корреляцию риска развития рака легкого с воспалительными заболеваниями легких, например с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) [6]. Канцерогены и воспалительные цитокины участвуют в активации воспаления и выживания клеток. Главным сигналом воспаления и выживания этих клеток является ядерный фактор - капша В (NF-κB), который участвует в нескольких этапах канцерогенеза и в развитии резистентности раковых клеток к химио- и лучевой терапии [7]. В последнее время появляется все больше исследований указывающих на ассоциацию NF-κB сигнального пути и риска развития рака легкого [8]. Семейство транскрипционных факторов NF-κB представляет собой один из важнейших регуляторов клеточной пролиферации, дифференциации, воспаления и ангиогенеза. NF-κB был охарактеризован как "обоюдоострый меч" поскольку, с одной стороны, его роль важна для иммунного ответа против рака, а с другой стороны, при определенных условиях его активация может способствовать воспалению и развитию опухоли [9]. NF-κB активируется различными стимулами внеклеточного характера: цитокинами, факторами роста, канцерогенами, а также стимулами внутриклеточного характера: генотоксическим и эндоретикулярным стрессом [10]. В частности, проводились исследования, в которых на экспериментальных моделях повреждения легких была показана повышенная активация NF-κB, вызванная гипоксией [11]

и окислительным стрессом [12]. Поскольку имеются данные о вовлечении воспаления в канцерогенез [13], а NF- κ B служит важнейшим медиатором воспалительных реакций [14], то мутации и полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки сигнального пути NF- κ B, могут играть роль в индивидуальной предрасположенности к раку легкого [15]

2. Сигнальный путь NF- κ B. Сигнальный путь NF- κ B играет критическую роль в воспалительных и иммунных реакциях. Активируясь многими провоспалительными стимулами (цитокины, окислительный стресс, УФ-лучи), NF- κ B вызывает каскад сигнальной трансдукции, возникающий в основном в результате фосфорилирования [16]. Эта передача сигналов включает канонический (классический) и неканонический (альтернативный) пути. Канонический путь, включающий NFKB1, опосредует широкий спектр воспалительных реакций, в то время как выживаемость и созревание В-клеток, лимфоидный органогенез, активация дендритных клеток и метаболизм кости регулируются неканоническим путем NFKB2 [17].

2.1 Семейство транскрипционных факторов NF- κ B. NF- κ B - это не отдельный белок, а набор из 5 структурно связанных транскрипционных факторов, включающих Rel (cRel), RelA (p65), RelB, NFKB1 (p50 и его предшественник p105), NFKB2 (p52 и его предшественник p100), способных связываться с промоторами, содержащими сайт κ B, для регуляции экспрессии генов. Данные транскрипционные факторы имеют высококонсервативный N-концевой домен гомологии Rel (PHD), служащий основой для образования гомо- и гетеродимерных комплексов на промоторах генов, а также C-концевой домен трансаактивации (TAD) [18]. Необходимо отметить, что субъединицы p50 и p52 лишены транскрипционной активности и стимулируют транскрипцию путем димеризации с субъединицами NF- κ B, содержащими TAD [19], а их гомодимеры (p105 и p100 соответственно) служат репрессорами транскрипции [18]. Наиболее распространенной формой NF- κ B является гетеродимер p65/p50 (рис.1). В этом случае, p50 содержит сайт связывания ДНК, а p65 может регулировать транскрипционную активность и стимулировать связывание p50 с ДНК посредством координации гомологичных доменов [20]. Гетеродимер p65/p50 является главным транскрипционным фактором в экспрессии генов канонического пути активации, кроме того гетеродимер p65/p50 принимает активное участие в онкогенезе [17].

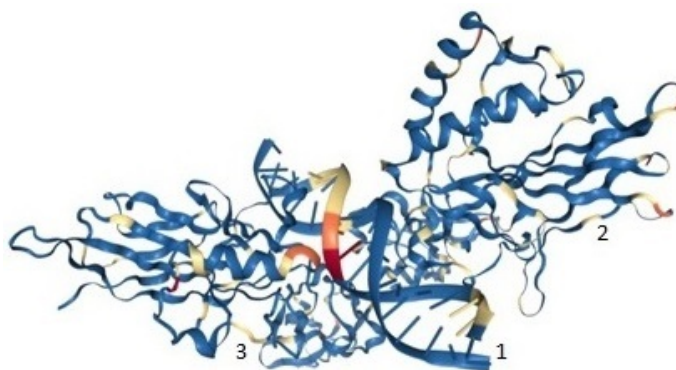


Рисунок 1 – Структура гетеродимера p65/p50. 1-ДНК; 2-гомомер p50; 3-гомомер p65 (рисунок взят с сайта PDB (protein data bank); ссылка: <http://www.rcsb.org/3d-view/2I9T>) [21]

В большинстве клеток транскрипционные факторы NF- κ B неактивны, т.к. связаны с помощью белка ингибитора каппа-В (I κ B), известного также как цитоплазматический ингибитор NF- κ B. I κ B удерживает белки в цитоплазме, маскируя сигнал ядерной локализации (NLS) фактора NF- κ B. На сегодняшний день известны 4 члена семейства белков I κ B: I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ B ϵ . Все четыре типа имеют сходные структуры, содержащие шесть анкириновых повторов [22]. Белки - предшественники p105 и p100 - функционируют аналогично белкам ингибиторам I κ B. Благодаря анкириновым повторам на С-концах p105 и p100 могут также удерживать в неактивном состоянии другие субъединицы NF- κ B в цитоплазме [23]. Таким образом, p100 и p105 могут контролировать активацию других членов семейства NF- κ B, кроме RelA [24]. Для активации белков p100 и p105 необходим протеасомный

процессинг, приводящий к удалению ингибирующего анкиринового домена, в результате чего образуются субъединицы p52 и p50, которые вместе с трансаактивирующими субъединицами RelA, RelB и c-Rel могут действовать как активаторы транскрипции [24]. Кроме того, в сигнальном пути NF- κ B активно принимает участие комплекс киназы I карра-B (ИКК). Данный комплекс представлен каталитическими субъединицами - ИКК α , ИКК β и регуляторной субъединицей - ИКК γ (ядерный фактор модулятора карра-B (NEMO)) [25]. Активность субъединиц ИКК, зависит от того, в каком сигнальном пути они задействованы. Например, ИКК β активизируется только в каноническом пути, в то время как ИКК α активизируется и в каноническом, и в неканоническом пути [17].

2.2 Механизмы активации NF- κ B.

NF- κ B сигналинг включает в себя канонический, неканонический и атипичный пути (рис. 2) [17]. Эти различные, но взаимосвязанные пути, отвечают на определенные внешние стимулы.

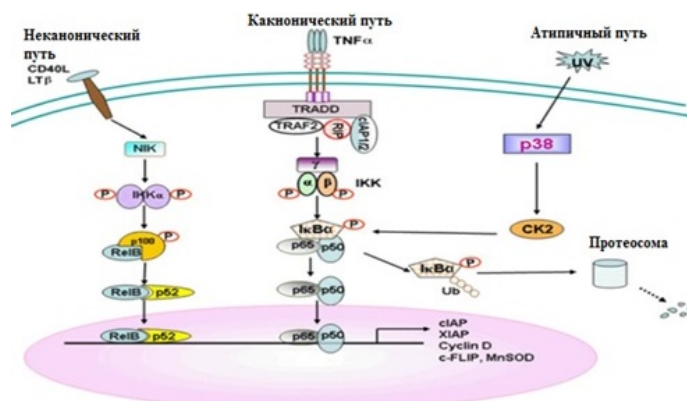


Рисунок 2 – Пути активации NF- κ B (адаптированный рисунок из статьи Wenshu Chen et al., 2011) [25]

Канонический путь - основной путь активации NF- κ B, активизируется такими стимулами, как фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкины - 1,6,10 (IL-1,6,10) и бактериальные эндотоксины (рис.3). Канонический путь включает димеры, состоящие из p50 и p65. На рис 2. продемонстрирован следующий путь активации: TNF- α индуцирует тримеризацию TNF- α рецептора 1 (TNFR1), активизируя множество адаптерных белков и киназ, что приводит к фосфорилированию и активации ИКК [23]. ИКК β фосфорилирует серин в 32 и 36 позициях в I κ B с последующим полиубиквитинированием и деградацией в протеасоме. Таким образом, NF- κ B высвобождается от I κ B, что приводит к транслокации NF- κ B в ядро клетки. В ядре субъединица p65 подвергается фосфорилированию и ацетилированию. Данные модификации влияют на эффективность связывания субъединицы с ДНК и/или взаимодействие с ко-активаторами транскрипции [26].

Канонический путь NF- κ B также может быть активирован вследствие повреждения ДНК ионизирующим излучением. Повреждение ДНК приводит к фосфорилированию ATM киназой субъединицы NEMO в ядерном комплексе PIDD (комплекс состоит из RIP1, p53-индуцированного домена смерти). После чего NEMO мигрирует из ядра в цитоплазму, связываясь и активируя ИКК β -киназу, включая тем самым канонический путь NF- κ B [27,28]

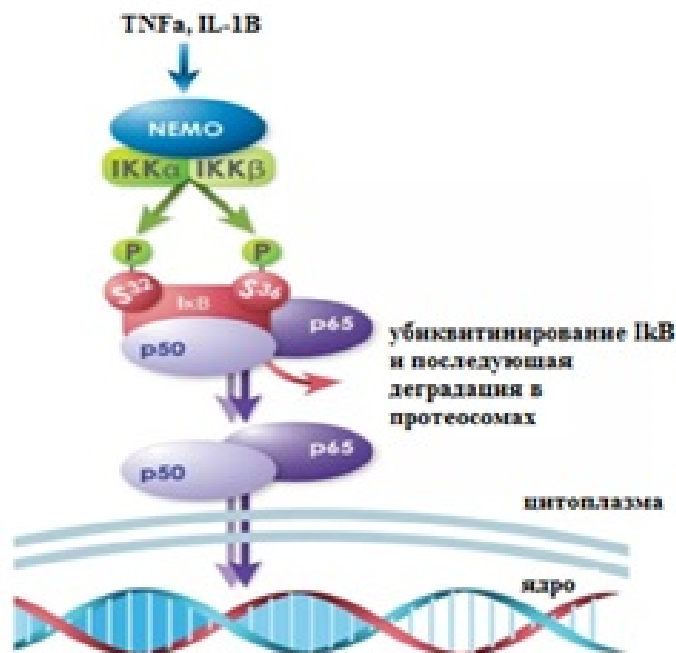


Рисунок 3 – Канонический путь активации NF-κB (адаптированный рисунок из статьи Thomas G. Brock, 2012) [39]

Неканонический путь NF-κB активизируется в ответ на факторы роста и цитокины, включая LTβ (лимфотоксин бета), CD40L (кластер дифференцировки 40) и BAF (фактор активации В-клеток) (рис.4) [30]. Сигналы, поступающие на TNFR1, также могут приводить к активации неканонического пути. В цитоплазме, под действием сигналов от TNFR1, начинает накапливаться NF-κB - иницирующая киназа (NIK), которая в свою очередь приводит к фосфорилированию p100 (NFκB 2) по двум консервативным участкам С-конца с помощью ИКК α-киназы. Далее следует убиквитинирование p100 (NFκB 2) и последующая протеосомная обработка, включающая удаление С-концевого домена с образованием субъединицы p52. Затем сформировавшийся димер p52/ RelB, транслоцируется в ядро, где действует как транскрипционный фактор (рис. 3) [24]. NFκB 2 (p100) является основным ингибитором комплекса p52/RelB, контролирующего гены, участвующие преимущественно в адаптивном иммунитете и развитии лимфоидных органов [31]. Атипичный путь активизируется такими стимулами как ультрафиолетовое облучение, перекись водорода и гипоксия / реоксигенация. В основе данного пути лежат различные механизмы активации NF-κB (рис. 1). Например, активация NF-κB сигналинга при действии ультрафиолетового облучения подразумевает участие не ИКК, а казеинкиназы 2 (СК1). При этом деградация IκB осуществляется не через протеосомы S26, а с использованием кальций-зависимой кальпаин протеолитической системы [32].

После индукции функциональных NF-κB гетеродимеров канонического (p65/p50) и неканонического (RelB/p52) путей в цитоплазме, гетеродимеры транслоцируются в ядро, для активации экспрессии генов про- и противовоспалительного ответов [17].

2.3 NF-κB как транскрипционный фактор. Семейство транскрипционных факторов NF-κB индуцирует экспрессию более 200 генов, вовлеченных в различные процессы, такие как адгезия клеток, выживание, воспаление, рост и дифференцировка клеток [23]. В ядре комплекс NF-κB связывается со специфичной последовательной, известной как κB-сайты (5'-GGGRNYYYCC-3', где R: пурин, Y: пиримидин и N: любой нуклеотид). κB-сайты содержатся в промоторах генов-мишеней и привлекают кроме субъединиц NF-κB и другие факторы транскрипции, включая комплекс c-Jun/c-Fos, белки ремоделирования хроматина, такие, как CREB-связывающий белок (CBP) и p300 [33]. Таким образом, на эффекты NF-κB

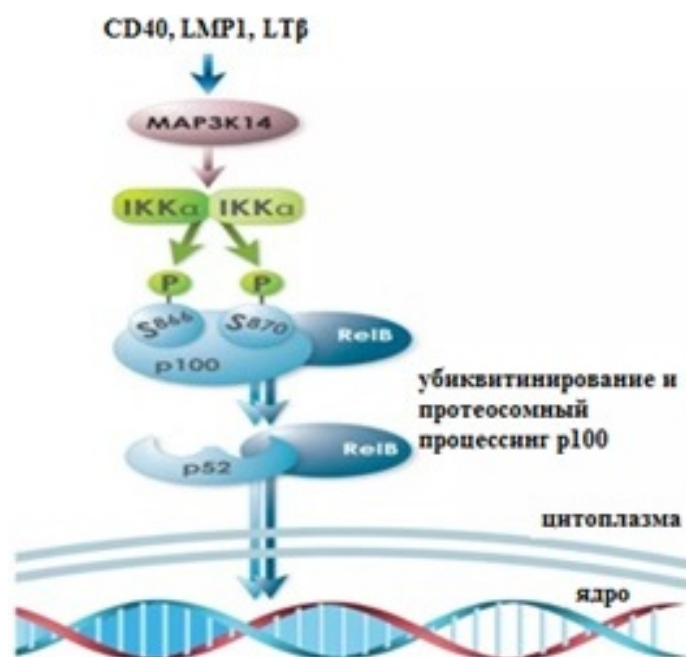


Рисунок 4 – Неканонический путь активации NF-κB (адаптированный рисунок из статьи Thomas G. Brock, 2012) [38]

сигнального пути могут оказывать влияние факторы транскрипции и ремоделинга хроматина, изменяя способность субъединиц NF-κB связываться с промоторами регулируемых генов [34]. NF-κB также может функционировать не только в качестве активатора, но и в качестве репрессора транскрипции. Например, NF-κB сигнальный путь, опосредованный повреждением ДНК скорее подавляет, нежели активизирует транскрипцию генов [35]. Таким образом, NF-κB транскрипционные факторы могут регулировать транскрипцию различных генов, как посредством их активации, так и репрессии.

3. NF-κB как диагностический и прогностический маркер канцерогенеза. Считается, что уровень экспрессии NF-κB связан с прогнозом различных онкологических заболеваний человека. Действительно, путь активации сигнального пути NF-κB играет важную роль в пролиферации и дифференцировке клеток, ангиогенезе, инвазии и метастазировании опухоли.

3.1 NF-κB и пролиферация. NF-κB сигнальный путь стимулирует рост и пролиферацию клеток [17]. Экспериментальные модели канцерогенеза, связанные с воспалением, показали, что цитокины воспалительных клеток прямо или косвенно стимулируют рост раковых клеток [36]. В эксперименте De Simone (2014) и его соавторов, было показано, что в злокачественных неоплазиях наблюдается прямая корреляция между повышением уровня цитокинов и активацией NF-κB сигналинга [37]. Раковые клетки продуцируют повышенный уровень цитокинов, стимулируя NF-κB для создания аутокринной сигнальной петли, способствующей опухолевой пролиферации [38]. Активации NF-κB-опосредованного клеточного роста и пролиферации способствуют цитокины IL-6, IL-17A TNF-α [37]. Кроме того, опухолевые клетки характеризуются увеличением экспрессии NF-κB. Так, в клетках аденокарциномы легкого, под воздействием TNF-α наблюдался повышенный уровень экспрессии субъединиц p65 и p50 NF-κB [39]. Еще одним механизмом усиления пролиферативной активности является транслокация и дальнейшее связывание p65 с промотором гена NEAT1 в клетках аденокарциномы легкого. Внешним стимулом для активации транслокации служит галектин-3 опосредованная активация TLR4 (Toll-подобный рецептор 4) (рис. 5) [40]. NEAT1 представляет собой длинную некодирующую РНК, входящую в состав, так называемых, параспеклов - ядерных телец, играющих важную роль в регуляции экспрессии генов, вовлеченных в дифференцировку клеток, ответ на клеточный стресс и иммунный ответ на вирусные инфекции. NEAT1 отображает типичные характеристики онкогенов, поскольку

вовлечена в возникновение и прогрессирование опухоли, а повышенный уровень экспрессии данной некодирующей РНК при раке коррелирует с такими клиническими признаками, как метастазирование, частота рецидивов и выживаемость пациентов [41]. Проллиферативная способность усиливается также путем активации сигнального пути IKK/NF- κ B метастазином, известным также как S100A4, представляющим собой небольшой кальций-связывающий белок, принимающий участие в регуляции апоптоза, подвижности клеток и канцерогенеза [42]

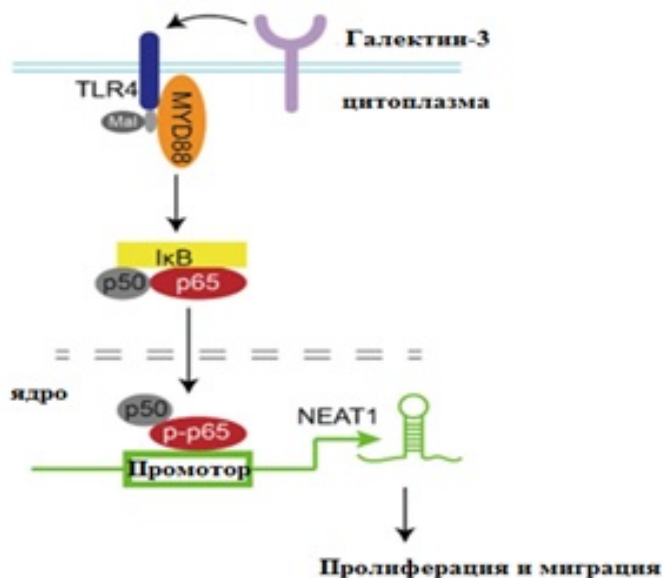


Рисунок 5 – Галектин-3 опосредованная активация TLR4/NF- κ B (адаптированный рисунок из статьи W. Zhou et al., 2018) [54]

Однако также предполагается, что NF- κ B сигнальный путь может участвовать в подавлении пролиферативной активности клетки путем ингибирования с-Jun N-терминальной киназы (JNK), и активации экспрессии ключевого белка ареста клеточного цикла - p21/WAF1 [43].

3.2 NF- κ B и регуляция апоптоза. NF- κ B играет критическую роль в блокировании апоптоза с помощью различных механизмов, основным из которых является индукция экспрессии антиапоптотических белков. Гены Bcl-XL, cIAP1, cIAP2, XIAP, A20, TRAF-2 и c-FLIP являются основными антиапоптотическими NF- κ B-чувствительными генами, которые способствуют выживанию клеток путем блокирования апоптоза [44]. Например, TNF- α зависимая активация Rel A/p65 индуцирует экспрессию антиапоптотических белков, таких как Bcl-XL и TRAF1, в результате чего увеличивается выживаемость раковых клеток. Следующим механизмом, негативно регулирующим апоптоз посредством NF- κ B, является подавление апоптоза посредством антагонизма p53. Возможно, это происходит в результате конкуренции за ко-активаторы транскрипции [45]. Кроме того, NF- κ B подавляет экспрессию PTEN, активируя киназу Akt, тем самым способствуя выживанию и пролиферации клеток [46]. Таким образом, NF- κ B блокирует апоптоз раковых клеток, что приводит к росту и последующей неоваскуляризации опухолей.

3.3 NF- κ B и ангиогенез. Накопленные данные свидетельствуют о том, что NF- κ B является ключевым регулятором ангиогенеза во время эмбрионального развития, а также в канцерогенезе. Необходимо отметить, что главными факторами активации ангиогенеза посредством NF- κ B являются цитокины и факторы роста. Так, липополисахариды (ЛПС) напрямую стимулируют прорастание человеческих эндотелиальных клеток посредством активации TRAF6/NF- κ B сигналинга [47]. Онкогенная активация NF- κ B усиливает ангиогенез опухоли, увеличивая выработку ангиогенных цитокинов, таких как ангиоген. При аденокарциноме легкого уровень IKK α увеличивается в эндотелии опухоли, а избыточная экспрессия IKK α увеличивает васкуляризацию и рост опухоли на мышинной модели рака

легкого [48]. Блокирование NF- κ B предотвращает ангиогенез и приводит к регрессии установленной сосудистой системы опухоли[49].

3.4 Активация NF- κ B, приводящая к канцерогенезу в результате воспаления.

На сегодняшний день известно, что активация NF- κ B в результате воспаления является связующим звеном в образовании раковых клеток. Одна из важнейших функций воспаления заключается в создании микроокружения, способствующего индукции онкогенных мутаций с последующей инициацией и прогрессией опухоли. Гетеродимер p50/p65 является главным членом семейства транскрипционных факторов NF- κ B, участвующим в канцерогенезе. Определение уровней p50 и p65 используется при многих злокачественных опухолях, таких как рак печени, рак молочной железы, рак желудка и пищевода [50]. Во всех исследованиях уровень экспрессии p50 и p65 положительно коррелировал с ростом опухолей [51]. Однако в исследовании Ricca A. и других (2001) было показано, что сверхэкспрессия p65 снижает онкогенность посредством активации апоптоза в раковых клетках человека. Апоптоз, в данном случае был связан с продукцией активных форм кислорода (АФК) и расщеплением поли-АДФ-рибозо-полимеразы [52]. Субъединицы p100 и p105 имеющие NF- κ B-независимые функции, также участвуют в онкогенезе [53]. p105, но не p50, может выступать в роли онкосупрессора [54]. В то же время было показано, что p100 обладает метастазирующей активностью в клетках рака легкого [55]. В канцерогенезе непосредственно принимают участие I κ B киназы (IKKs). Было обнаружено, что экспрессия IKK α усиливается при раке молочной железы, обеспечивая выживание раковых клеток [56]. Экспрессия IKK α была также повышена у 65% аденокарцином протоков поджелудочной железы, что коррелировало с низкой выживаемостью пациентов [56]. В раковых клетках активированный NF- κ B индуцирует широкий спектр генов, способствующих выживанию, пролиферации, ангиогенезу, метастазированию опухолевых клеток, а также онкогенному воспалению. Неопухоловые клетки, активированные в результате мутаций NF- κ B, также могут способствовать злокачественной трансформации посредством создания онкогенного окружения [57].

3.5 Мутации в генах, кодирующих ключевые белки NF- κ B сигнального пути, приводящие к онкогенной трансформации клеток. Многими исследователями было показано, что мутации и одиночные нуклеотидные полиморфизмы в генах, связанных с NF- κ B сигнальным путем, могут изменять индивидуальную чувствительность к риску развития злокачественных неоплазий [58,59,60]. Мутация главного супрессора ядерного фактора B - I κ B- α , приводит к онкогенной трансформации клеток, посредством активации онкогенов, либо гиперэкспрессии некоторых субъединиц NF- κ B. На сегодняшний день обнаружено более 69 различных небольших мутаций I κ B- α , включающих миссенс, нонсенс мутации и мутации в местах сплайсинга [59]. Поскольку экспрессия I κ B- α индуцируется субъединицей c-Rel [60], делеция С-терминального конца Δ 475 c-Rel приводит к уменьшению экспрессии I κ B- α , в результате чего p65 и p50 опосредуют абберантную экспрессию генов - мишеней, что в итоге может приводить к онкогенной трансформации клетки [61]. У людей, имеющих хромосомные транслокации, затрагивающие ген NF κ B2 приводят к В и Т-клеточным лимфомам. Derudder (2003) и его соавторы обнаружили, что клетки лимфомы характеризуются усеченными белками p100, в которых отсутствуют некоторые С-концевые анкириновые повторы. Известно, что С-конец имеет решающее значение для NIK-опосредованной переработки ингибиторного предшественника p100 в активную субъединицу p52. Анкириновые повторы С-конца p100 в результате механизма процессинга вырезаются и предшественник p100 переходит в активную форму p52. Нонсенс мутация в 21-м экзоне NF κ B2 (в результате чего белок p100 урезается на последние 125 аминокислот) приводит к потере его ингибирующей функции. Это генетическое изменение приводит к увеличению генерации p52 и увеличению транскрипции генов - мишеней NF- κ B, в том числе протоонкогенов [62]. Мутация в гене NF κ B2 влияет также на риск развития множественной миеломы в результате активации неканонического пути NF- κ B [62]. Kim (2000) и коллеги обнаружили транкированный вариант нефункционального белка p100. Интересным в их исследовании является тот факт, что присутствие всего лишь 2-х С-концевых анкириновых последовательностей в белке, состоящем только из 552 аминокислотных остатков, было достаточным для ингибирования NF- κ B-опосредованной активации транскрипции [63].

Недавно была обнаружена мутация pArg609 в гене NFkB2, приводящая к раку щитовидной железы. Данная мутация была на 2 аминокислоты короче, чем мутация pArg611, которая в свою очередь не проявляла выраженного фенотипа [64]. При обзоре литературы было выявлено наличие противоречивых выводов о последствиях мутаций в гене RELA. Группа исследователей (Msaki A. и другие, 2011) показала, что мутация, затрагивающая Thr в 505 позиции белка RelA (p65) обеспечивает подавление опухоль-стимулирующих функций RelA(p65) [65]. Кроме того, полиморфизм, приводящий к замене Ser на Ala в позиции 256, приводит к тому, что RelA(p65) проявляет фенотип репрессора транскрипции, вследствие нарушения ядерной транслокации и дальнейшей активации генов [66]. Мутантный RelA(p65) Ser536 индуцирует апоптоз, посредством активации ряда генов, таких как Bim, Puma, Noxa, Bcl-2 и сурвивин [66]. При этом Batterworth J (2016) и его коллеги выявили ассоциацию однонуклеотидной замены T505A в гене RELA с раком печени. Более того, у мышей с подобной однонуклеотидной заменой была более высокая вероятность появления опухолей по сравнению с мышами дикого типа [67].

4. NF-kB и рак легкого. Свехэкспрессия NF-kB имеет решающее значение в прогрессировании немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). NF-kB сигнальный путь может быть активирован курением, основным фактором риска развития рака легкого. На клеточных линиях НМРЛ было показано, что компоненты табака стимулируют NF-kB-зависимую выживаемость опухолевых клеток [68]. Недавние исследования продемонстрировали ведущую роль RelA(p65) в развитии рака легкого. Именно активацию RelA(p65) связывают с прогрессированием рака легкого и низкой выживаемостью пациентов [17]. Данная активация, как правило, происходит в результате снижения экспрессии NFkB1. Уровень экспрессии NFkB1 может быть снижен посредством онкогенных микро-РНК, либо вследствие мутаций в самом гене [46]. Это подтверждает гипотезу о том, что активация NF-kB сигнального пути может быть детерминирована как эпигенетическими [69], так и генетическими механизмами [17]. Повторная экспрессия NFkB1 в клетках рака легкого ингибирует их рост. Таким образом, NFkB1 подавляет как инициацию, так и прогрессирование рака [54]. Недавно было обнаружено, что p100 (известный также как SND1) может действовать как активатор метастазирования при раке легкого, вне зависимости от сигнального пути NF-kB [55]. В исследовании Xing (2018) и его коллег была показана обратная корреляция между экспрессией p100 и онкосупрессорной микроРНК miR-320a в тканях рака легкого [55]. Известно, что p100 в качестве компонента RISC комплекса участвует в деградации двухцепочечных молекул РНК [70]. Возможно, что именно данный механизм лежит в основе снижения уровня miR-320a в клетках рака легкого. Также было показано, что p100 участвует в метастазировании раковых клеток как потенциальный белок, взаимодействующий с метадгеринами [71]. Усиление экспрессии RELA является ранним и частым явлением в патогенезе рака легкого. Причем уровень экспрессии RELA в мелкоклеточном раке легкого (МКРЛ) значительно превышает таковой в НМРЛ. При аденокарциноме легкого уровень экспрессии был значительно выше на поздних стадиях развития рака. Было обнаружено, что наиболее высокий уровень экспрессии RELA наблюдался в опухолях с мутацией K-RAS или EGFR по сравнению с опухолями дикого типа [72]. При этом необходимо отметить, что активация NF-kB может зачастую возникает в результате мутаций в генах, кодирующих основные субъединицы NF-kB сигнального пути [54,55].

4.1 Мутации в NF-kB приводящие к раку легкого. Подавление функций ингибитора p105 связано с высоким риском развития рака легкого у людей и плохим прогнозом выживаемости [54]. У мышей, нокаутированных по гену NFkB1, после воздействия уретаном развилось значительно больше опухолей легкого, чем у мышей дикого типа [54]. Таким образом, можно предположить, что мутации, приводящие к потере функции белка p105, могут приводить к опухолевой трансформации вследствие активации онкогенного белка RelA(p65). Однако не только мутации влияют на онкогенную трансформацию и выживаемость раковых клеток, однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) также влияют на риск развития рака легкого. Shiels и коллеги (2012) проанализировав 1429 однонуклеотидных полиморфизмов в 44 различных генах иммунного ответа в опухолях легкого, обнаружили только одну

достоверную ассоциацию с риском развития рака легкого - SNP rs4648127 в гене NFkB1. В ходе проведения полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) было показано, что генотипы СТ/ТТ NFkB1 были связаны с уменьшением риска развития рака легкого [73]. В 2014 году был обнаружен полиморфизм -94ins/del ATTG промоторной области NFkB1, который также играет существенную роль в патогенезе рака легкого [74]. Данный полиморфизм обуславливает снижение активности промотора, что приводит к уменьшению продукции белка p105, при этом усиливая воспалительный ответ и способность к онкогенной трансформации [74]. Однако в литературе имеются противоречивые данные о полиморфизме -94ins/del ATTG. Wen Fu (2017) и его соавторы провели мета-анализ, в котором выявили значительную связь со снижением риска развития рака легкого при полиморфизме -94ins/del ATTG в гене NFkB1 [75]. При этом было показано, что аллельное распределение этого полиморфизма варьирует географически и этнически, что приводит к несоответствиям риска развития рака легкого среди различных групп населения [75]. Ингибитор ядерного фактора каппа-В ($\text{I}\kappa\text{B}\alpha$) играет решающую роль в воспалительных процессах в легких и соответственно рака легкого. Вариант 5758AA в гене, кодирующем $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$, характеризуется повышенным риском рака легкого [76]. Кроме того, варианты генотипы полиморфизмов NFkB1A ($\text{I}\kappa\text{B}\alpha$) -826C>T и -881A>G также могут увеличить риск развития рака легкого [77]. Клиническую значимость в развитии НМРЛ также имеют однонуклеотидные полиморфизмы в гене NFkB2. Данные исследования Dimitrakopoulos и соавторов (2018) показывают, что генотипы ТТ (rs 7897947 T>G) и АА (rs 12769316 G>A) тесно связаны с повышенным риском развития НМРЛ. Кроме того, носители гомозиготного варианта ТТ (rs 7897947 T>G) имели худшие показатели 2- и 3-летней выживаемости, по сравнению с носителями аллеля G [1]. Интересно, что среди пациентов, у которых развились метастазы, носители генотипа АА (rs 12769316 G>A) имели лучшую 5-летнюю выживаемость [1]. Таким образом, мутации в генах, кодирующих ключевые белки NF-kB сигнального пути играют существенную роль в патогенезе рака легкого.

5. Заключение. В данном обзоре мы постарались осветить современные представления о функциональных особенностях сигнального пути NF-kB и его роли в патогенезе рака легкого. Лучшее понимание данного сигнального пути позволит разработать новые подходы в ранней диагностике и терапии самого распространенного и характеризующегося высокой смертностью онкологического заболевания - рака легкого.

Список литературы

- 1 Dimitrakopoulos FI, Antonacopoulou AG, Kottorou A, Marousi S, Koukourikou I, Kalofonou M, Panagopoulos N, Scopa C, Dougenis D, Papadaki H, Papavassiliou AG, Kalophonos HP. Variant of BCL3 gene is strongly associated with five-year survival of non-small-cell lung cancer patients// *Lung cancer*.-2015.-Vol. 89(3).- P.311-319. doi: 10.1016/j.lungcan.2015.06.006.
- 2 Nanavaty P, Alvarez MS, Alberts WM. Lung cancer screening: advantages, controversies, and applications// *Cancer Control*.-2014.-Vol. 21(1).- P.9-14. doi: 10.1177/107327481402100102
- 3 Jemal A., Siegel R., Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006// *CACancer Journal for Clinicians*.-2006. - Vol.56(2).- P. 106-30.
- 4 Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence// *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*.-2004.-Vol. 2.- P. 3-9. doi: 10.1016/j.lungcan.2004.07.998
- 5 Bersimbaev RI, Bulgakova O. The health effects of radon and uranium on the population of Kazakhstan. *Genes Environ*. 2015;37:18. Published 2015 Oct 1. doi:10.1186/s41021-015-0019-3
- 6 Koshiol J, Rotunno M, Consonni D, Pesatori AC, De Matteis S, Goldstein AM, Chaturvedi AK, Wacholder S, Landi MT, Lubin JH, Caporaso NE. Chronic obstructive pulmonary disease and altered risk of lung cancer in a population-based case-control study// *PLoS One*.-2009-Vol. 4(10).-P. e7380.doi: 10.1371/journal.pone.0007380.
- 7 Koti M, Gooding RJ, Nuin P, Haslehurst A, Crane C, Weberpals J, Childs T, Bryson P, Dharsee M, Evans K, Feilottter HE, Parkand PC. Identification of the IGF1/PI3K/NF?B/ERK gene signalling networks associated with chemotherapy resistance and treatment response in high-grade serous epithelial ovarian cancer// *BMC Cancer*.-2013-Vol.-13- P.549.
- 8 Chen W, Li Z, Bai L, and Lin Y. NF-?B in lung cancer, a carcinogenesis mediator and a prevention and therapy target// *Frontiers in Bioscience*, -2011-Vol.-1(16)-P.1172-85.
- 9 Pikarsky E and Ben-Neriah Y. NF-kappaB inhibition: a double-enged sword in cancer// *European journal of cancer*.-2006-Vol.- 42(6)- P.779-84. doi: 10.1016/j.ejca.2006.01.011
- 10 Yang G, Abate A, George AG, Weng YH, Dennerly PA. Maturation differences in lung NF-kappaB activation and their role in tolerance to hyperoxia// *J Clin Invest*.-2004-Vol.- 114(5)- P.669-78. doi: 10.1172/JCI19300

- 11 Moodie FM, Marwick JA, Anderson CS, Szulakowski P, Biswas SK, Bauter MR, Kilty I, Rahman I. Oxidative stress and cigarette smoke alter chromatin remodeling but differentially regulate NF-kappaB activation and proinflammatory cytokine release in alveolar epithelial cells *FASEB J.*-2004-Vol.-18(15)- P.1897-9.doi: 10.1096/fj.04-1506fje
- 12 DiDonato JA, Mercurio F, Karin M. NF-B The link between inflammation cancer *Immunol Rev.*-2012-Vol.-246(1)- P.379-400.doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01099.x.
- 13 Eiri N, Vizoso FJ. Inflammation cancer// *World J Gastrointest Surg.*-2012-Vol.- (3)-P.62-72.doi: 10.4240/wjgs.v4.i3.62.
- 14 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: A key role in inflammatory diseases// *J Clin Invest.*-2001-Vol.-107(1)-P.7-11.doi: 10.1172/JCI11830
- 15 Gu L, Wang Z, Zuo J, Li H, Zha L. Prognostic significance of NF-iB expression in non-small cell lung cancer: A meta-analysis// *PLoS One.*-2018-Vol.- 13(5)- P.e0198223. doi: 10.1371/journal.pone.0198223.
- 16 Li N, Karin M. Ionizing radiation and short wavelength UV activate NF-kappaB through two distinct mechanisms// *Proc Natl Acad Sci U S A.*-1998-Vol.- 95(22)- P.13012-7. doi: 10.1073/pnas.95.22.13012
- 17 Chen W, Li Z, Bai L and Lin Y. NF-kappaB, a mediator for lung carcinogenesis and a target for lung cancer prevention and therapy// *Front Biosci.*-2011-Vol.- 16- P.1172-85.
- 18 Grosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle// *Cell.*-2002-Vol.-109- P.S81-96
- 19 Hayden MS, Ghosh S. NF-kappaB, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions// *Genes Dev.*-2012-Vol.- 26(3)-P. 203-34. doi: 10.1101/gad.183434.111.
- 20 Li YZ, Zhao P. Expressions and clinicopathologic significance of Id2 and NF-kB/p65 in gastric cancer// *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.*-2018-Vol.- 98(11)- P.846-850. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.11.011.
- 21 <http://www.rcsb.org/3d-view/2I9T>
- 22 Hinz M, Arslan SC, Scheidereit C. It takes two to tango: IkappaBs, the multifunctional partners of NF-kappaB// *Immunol Rev.*-2012-Vol.- 246(1)- P.59-76. doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01102.x.
- 23 Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB// *Genes Dev.*-2004-Vol.- 18(18)- P.2195-224 doi: 10.1101/gad.1228704
- 24 Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF-iB signaling pathways// *Nat. Immunol.*-2011-Vol.- 12(8)- P.695-708.doi: 10.1038/ni.2065
- 25 Festjens N, Vanden Berghe T, Cornelis S, Vandenabeele P. RIP1, a kinase on the crossroads of a cell's decision to live or die// *Cell Death Differ.*-2007-Vol.- 14(3)- P.400-10. doi: 10.1038/sj.cdd.4402085
- 26 Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF-kappaB and the immune response//*Oncogene.*-2006-Vol.- 25(51)- P.6758-80. doi: 10.1038/sj.onc.1209943
- 27 Devin A, Cook A, Lin Y, Rodriguez Y, Kelliher M, Liu Z. The distinct roles of TRAF2 and RIP in IKK activation by TNF-R1: TRAF2 recruits IKK to TNF-R1 while RIP mediates IKK activation //*Immunity.*-2000-Vol.- 12(4)- P.419-29.
- 28 Yang J, Lin Y, Guo Z, Cheng J, Huang J, Deng L, Liao W, Chen Z, Liu Z, Su B. The essential role of MEKK3 in TNF-induced NF-kappaB activation// *Nat Immunol.*-2001-Vol.-2(7)- P.620-4. doi: 10.1038/89769
- 29 Thomas G. Brock. NF-iB// Cayman chemical.-2012 Available at: <https://www.caymanchem.com/news/nfkbistart=4>
- 30 Busino L, Millman SE, Pagano M. SCF-mediates degradation of p100 (NF-kB2): mechanisms and relevance in multiple myeloma// *Sci Signal.*-2012-Vol.- 5(253)- P.pt14. doi: 10.1126/scisignal.2003408.
- 31 Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity// *Trends Immunol.*-2004-Vol.- 25(6)- P.280-8. doi: 10.1016/j.it.2004.03.008
- 32 Kato T, Jr, Delhase M, Hoffmann A, Karin M. CK2 Is a C-Terminal IkappaB Kinase Responsible for NF-kappaB Activation during the UV Response// *Mol Cell.*-2003-Vol.-12(4)-P.829-39
- 33 Bruno P.B. Pires, Rafael C.M.C. Silve, Gerson M. Ferreira and E. Abdelhay. NF-kappaB: Two sider of the same coin// *Genes (Basel)*-2018-Vol.- 9(1)- P.E24. doi: 10.3390/genes9010024.
- 34 Hoesel B, Schmid J. The complexity of NF-kB signaling in inflammation and cancer// *Mol cancer*-2013-Vol.- 12 - P.86.doi: 10.1186/1476-4598-12-86.
- 35 Campbell KJ, Rocha S, Perkins ND. Active repression of antiapoptotic gene expression by RelA(p65) NF-kappa B// *Mol Cell.*-2004-Vol.- 13(6)-P.853-65.
- 36 Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S, Scheller J, Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L, Karin M. IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer// *Cancer cell.*-2009-Vol.-15(2)- P.103-13. doi: 10.1016/j.ccr.2009.01.001.
- 37 Simone V De, Franze E, Ronchetti G, Colantoni A, Fantini MC, Di Fusco D, Sica GS, Sileri P, MacDonald TT, Pallone F, Monteleone G, Stolfi C. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF-i synergistically activate STAT3 and NF-kB to promote colorectal cancer cell growth// *Oncogene.*-2015-Vol.- 34(27)- P.3493-503.doi: 10.1038/onc.2014.286.
- 38 Zhang X, Yue P, Page BD, Li T, Zhao W, Namanja AT, Paladino D, Zhao J, Chen Y, Gunning PT, Turkson J. Orally bioavailable Small molecule inhibitor of transcription factor STAT3 regressess human breast and lung cancer xenografts// *Proc Natl Acad Sci USA.*-2012-Vol.- 109(24)- P.9623-8. doi: 10.1073/pnas.1121606109.

- 39 Haley K J, Zhang F, Enanual L and Sunday M. Tumor necrosis factor includes neuroendocrine differentiation in small cell lung cancer cell lines// American Journal of Physiology.-1998-Vol.275
- 40 Zhou W, Chen X, Hu Q, Chen X, Chen Y, Huang L. Galectin-3 activates TLR4/NF- κ B signaling to promote lung adenocarcinoma cell proliferation through activating lncRNA-NEAT1 expression // BMC Cancer.-2018-Vol.- 18(1)- P.580.doi: 10.1186/s12885-018-4461-z
- 41 Dong P, Xiong Y, Yue J, Hanley SJB, Kobayashi N, Todo Y, Watari H. Long non-coding rna neat1: a novel target for diagnosis and therapy in human tumors// Front Genet.-2018-Vol.-9- P.471. doi: 10.3389/fgene.2018.00471.
- 42 Zhu Y, Zhou Y, Zhou X, Guo Y, Huang D, Zhang J, Wang C, Cai L. S100A4 suppresses cancer stem cell proliferation via interaction with the IKK/NF- κ B signaling pathway // BMC Cancer.-2018-Vol.- 18(1)- P.763. doi: 10.1186/s12885-018-4563-7.
- 43 Lin Y, Bai L, Chen W, Xu S. The NF- κ B activation pathways, emerging molecular targets for cancer prevention and therapy// Expert Opin Ther Targets.-2010-Vol.-14(1) - P.45-55. doi: 10.1517/14728220903431069.
- 44 Karin M, Lin A. NF- κ B at the crossroads of life and death// Nat Immunol.-2002-Vol.-3(3)- P.221-7.doi: 10.1038/ni0302-221
- 45 Kaltschmidt B, Kaltschmidt C, Hofmann TG, Hehner SP, Droge W, Schmitz ML. The pro- or anti-apoptotic function of NF- κ B is determined by the nature of the apoptotic stimulus // Eur J Biochem.-2000-Vol.-267(12)- P.3828-35.
- 46 Akgun S, Kucuksayan H, Ozes ON, Can O, Alikanoglu AS, Yildiz M, Akca H. NF- κ B upregulation of miR-548as-3p increases invasion of NSCLC by targeting PTEN// Anticancer Agents Med Chem.-2019 doi: 10.2174/1871520619666190206165215.
- 47 Pollet I, Opina CJ, Zimmerman C, Leong KG, Wong F, Karsan A. Bacterial lipopolysaccharide directly induces angiogenesis through TRAF6-mediated activation of NF- κ B and c-Jun N-terminal kinase // Blood.-2003-Vol.- 102(5)- P.1740-2.doi: 10.1182/blood-2003-01-0288.
- 48 DeBusk LM, Massion PP, Lin PC. IkappaB kinase-alpha regulates endothelial cell motility and tumor angiogenesis// Cancer Res.-2008-Vol.- 68(24)- P.10223-8.doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1833.
- 49 Schaafhausen MK, Yang WJ, Centanin L, Wittbrodt J, Bosserhoff A, Fischer A, Scharltl M, Meierjohann S. Tumor angiogenesis is caused by single melanoma cells in a manner dependent on reactive oxygen species and NF- κ B// J Cell Sci.-2013-Vol.- 126(17)- P.3862-72. doi: 10.1242/jcs.125021.
- 50 Brown M, Cohen J, Arun P. NF- κ B in carcinoma therapy and prevention// Expert Ther Target.-2008-Vol.- 12(9)-P.1109-22.doi: 10.1517/14728222.12.9.1109 .
- 51 Le F, Zhang J, liu W, Huang X, Luo W. The levels of NF- κ B p50 and NF- κ B p65 play pole in thyoid carcionjma malignancy in vivo// Journal of International Medical Research.-2018 doi:10.1177/0300060518785846
- 52 Ricca A, Biroccio A, Trisciuglio D, Cippitelli M, Zupi G, Del Bufalo D. relA over-expression reduces tumorigenicity and activates apoptosis in human cancer cells// Br J Cancer.-2001-Vol.- 85(12)- P.1914-21.doi: 10.1054/bjoc.2001.2174
- 53 Chariot A. The NF- κ B-independent functions of IKK subunits in immunity and cancer// Trends Cell Biol.-2009-Vol.- 19(8)- P. 404-13.doi: 10.1016/j.tcb.2009.05.006.
- 54 Sun F, Qu Z, Xiao Y, Zhou J, Burns TF, Stabile LP, Siegfried JM and Xiao G. NF- κ B1 p105 suppresses lung tumorigenesis through the Tpl2 kinase but independently of its NF- κ B function // Oncogene.-2016-Vol.- 35(18)- P.2299-310. doi: 10.1038/onc.2015.299.
- 55 Xing A, Pan L, Gao J. p100 functions as a metastasis activator and is targeted by tumor suppressing microRNA-320a in lung cancer// Thorac Cancer.-2018-Vol.-9(1)- P.152-158. doi: 10.1111/1759-7714.12564.
- 56 Williams V, Grosset AA, Zamorano Cuervo N, St-Pierre Y, Sylvestre MP, Gaboury L, Grandvaux N. Detection of IKK γ by immunohistochemistry in primary breast cancer: association with EGFR expression and absence of lymph node metastasis// BMC Cancer.-2017-Vol.-17(1)- P.356.doi: 10.1186/s12885-017-3321-6.
- 57 Karin M, Greten FR. NF- κ B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression// Nat Rev Immunol.-2005-Vol.-5(10)- P.749-59.doi: 10.1038/nri1703
- 58 Chen W, Wang X, Bai L, Liang X, Zhuang J, Lin Y. Blockage of NF- κ B by IKK β - or RelA-siRNA rather than the NF- κ B super-suppressor IkappaB α mutant potentiates adriamycin-induced cytotoxicity in lung cancer cells// J Cell Biochem.-2008-Vol.- 105(2)- P.554-61. doi: 10.1002/jcb.21856.
- 59 Fusco F, Pescatore A, Bal E, Ghoul A, Paciolla M, Lioi MB, D'Urso M, Rabia SH, Bodemer C, Bonnefont JP, Munnich A, Miano MG, Smahi A, Ursini MV. Alterations of the IKBKG locus and diseases: an update and a report of 13 novel mutations// Hum Mutat.-2008-Vol.- 29(5)- P.595-604.doi: 10.1002/humu.20739.
- 60 Sun SC, Ganchi PA, Ballard DW, Greene WC. NF- κ B controls expression of inhibitor I κ B α : evidence for an inducible autoregulatory pathway // Science.-1993-Vol.-259(5103)- P.1912-5
- 61 Kazuyuki I, Byung RL, Atsuki F, Makio I. IkB-i-specific transcript regulation by the C-terminal end of c-Rel// FEBS letters.-2004-Vol.- 579(1)- P.141-4. doi: 10.1016/j.febslet.2004.11.060
- 62 Derudder E, Laferti A, Ferreira V, Mishal Z, Baud V, Tarantino N, Kirner M. Identification and characterization of p100HB, a new mutant form of p100/NF- κ B2// Biochem. Biophys. Res. Commun.-2003-Vol.- 308(4)- P.744-9.
- 63 Kim KE, Gu C, Thakur S, Vieira E, Lin JC, Rabson A. B. Transcriptional regulatory effects of

- lymphoma-associated NFKB2/lyt10 protooncogenes// *Oncogene*.-2000-Vol. - 19(10)- P.1334-45. doi: 10.1038/sj.onc.1203432
- 64 Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (2018).
Available at: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=6400175>.
- 65 Campbell KJ, Witty JM, Rocha S, Perkins ND. Cisplatin mimics ARF tumor suppressor regulation of RelA (p65) nuclear factor- κ B transactivation// *Cancer Res.* -2006-Vol.- 66(2)-P.929-35. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2234
- 66 Bu Y, Li X, He Y, Huang C, Shen Y, Cao Y, Huang D, Cai C, Wang Y, Wang Z, Liao DF, Cao D. A phosphomimetic mutant of RelA/p65 at Ser536 induces apoptosis and senescence: An implication for tumor-suppressive role of Ser536 phosphorylation// *Int J Cancer*.-2016-Vol.- 138(5)- P.1186-98.doi: 10.1002/ijc.29852.
- 67 Butterworth JA, Moles A, Sanchez A, Hunter JE, Leslie J, Sellier H, Tiniakos D, Cockell SJ, Mann DA, Oakley F, Perkins ND. A RelA(p65) Thr505 phospho-site mutation reveals an important mechanism regulating NF- κ B-dependent liver regeneration and cancer// *Oncogene*.-2016 -Vol.- 35(35)- P.4623-32. doi: 10.1038/onc.2015.526.
- 68 Feng Y, Yang C, Hu D, Wang X, Liu X. miR-675 promotes disease progression of non-small cell lung cancer via activating NF- κ B signaling pathway// *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. -2017-Vol.- 63(5)- P.7-10.doi: 10.14715/cmb/2017.63.5.2.
- 69 Dong J, Jimi E, Zhong H, Hayden MS, Ghosh S. Repression of gene expression by unphosphorylated NF- κ B p65 through epigenetic mechanisms// *Genes Dev.*-2008-Vol.-22(9)- P.1159-73. doi: 10.1101/gad.1657408.
- 70 Scadden AD, The RISC subunit Tudor-SN binds to hyper-edited double-stranded RNA and promotes its cleavage// *Nat Struct Mol Biol*.-2005-Vol.- 12(6)- P.489-96. doi: 10.1038/nsmb936
- 71 Blanco MA, Alekovič M, Hua Y, Li T, Wei Y, Xu Z, Cristea IM, and Kang Y. Identification of staphylococcal nuclease domain-containing 1 (snd1) as a metadherin-interacting protein with metastasis-promoting functions// *J Biol Chem*.-2011-Vol.- 286(22)- P.19982-92. doi: 10.1074/jbc.M111.240077.
- 72 . Stathopoulos GT, Sherrill TP, Han W, Sadikot RT, Polosukhin VV, Fingleton B, Yull FE, Blackwell TS. Use of bioluminescent imaging to investigate the role of nuclear factor- κ B in experimental non-small cell lung cancer metastasis// *Clin Exp Metastasis*.-2008-Vol.-25(1)- P.43-51.
- 73 Shiels MS, Engels EA, Shi J, Landi MT, Albanes D, Chatterjee N, Chanock SJ, Chaturvedi CK and Chaturvedi AK. Genetic variation in innate immunity and inflammation pathways associated with lung cancer risk// *Cancer*.-2012-Vol.- 118(22)- P.5630-6.doi: 10.1002/cncr.27605.
- 74 Oltulu YM, Coskuncinar E, Ozkan G, Aynaci E, Yildiz P, Isbir T, and Yaylim I. Investigation of NF- κ B1 and NF- κ B2 gene polymorphism in non-small cell lung cancer. *BioMed*.-2014- P.530381. doi: 10.1155/2014/530381.
- 75 Fu W, Zhuo ZJ, Chen YC, Zhu J, Zhao Z, Jia W, Hu JH, Fu K, Zhu SB, He J, Liu GC. NFKB1 -94insertion/deletion ATTG polymorphism and cancer risk: Evidence from 50 case-control studies // *Oncotarget*.-2017-Vol.- 8(6)- P.9806-9822.doi: 10.18632/oncotarget.14190.
- 76 Huang D, Yang L, Liu Y, Zhou Y, Guo Y, Pan M, Wang Y, Tan Y, Zhong H, Hu M, Lu W, Ji W, Wang J, Ran P, Zhong N, Zhou Y, Lu J. Functional polymorphisms in NF- κ B1/I κ Ba predict risks of chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer in Chinese// *Hum Genet*.-2013-Vol.-132(4)- P.451-60.doi: 10.1007/s00439-013-1264-9.
- 77 Zhang JW, Chen QS, Zhai JX, Lv PJ, Sun XY. Polymorphisms in NF- κ B pathway genes their association with risk of lung cancer in the Chinese population // *Pak J Med Sci*.-2015-Vol.-31(6)-P.1411-1416.doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.316.7935>

Д.А.Ахметова, О.В.Булгакова

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан
Өкпе обыры патогенезіндегі В (NF-κB) ядролық факторының рөлі

Аңдатпа: Дүние жүзін өкпе обыры -қатерлі ісік ауруларының ішінде өлім-жітім көрсеткіші бойынша көшбасшы болып табылады. Қатерлі ісіктің дамуы жасушаның тіршілік етуі мен жасуша өлімінің сигналдары арасындағы тепе-теңдікке байланысты. Жасуша тіршілігінің негізгі сигналы - канцерогенезде және рак клеткаларының химиялық, сәулелі терапияға кедергісінде маңызды рөл атқаратын ядролық фактор Карра В (NF-κB) болып табылады. Жақында жүргізілген зерттеулер NF-κB сигнал жолы мен өкпе обырының дамуы арасындағы байланыстарды көрсетті. Бұл шолуда NF-κB сигнал жолының функционалды ерекшеліктері мен оның өкпе обыры патогенезіндегі рөлі туралы соңғы ақпараттар жиналған.

Түйін сөздер: Өкпе обыры, NF-κB, сигналинг, мутациялар, өкпе обыры тәуекелі

D.A.Akhmetova, O.V.Bulgakova

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

The role of nuclear factor kappa B (NF-κB) in the pathogenesis of lung cancer

Abstract: Lung cancer is a leader in the mortality rate of malignant neoplasias around the world. The development and progression of a malignant tumor depends on the balance between cell survival and cell death signals. The main signal for cell survival is the nuclear factor kappa B (NF-κB), which plays a key role in carcinogenesis and resistance of cancer cells to chemo- and radiotherapy. Recent studies have demonstrated a link between the activation of the NF-κB signaling pathway and the development of lung cancer. This review highlights the current understanding of the functional features of the NF-κB signaling pathway and its role in the pathogenesis of lung cancer.

Keywords: lung cancer, NF-κB, signaling, mutation, lung cancer risk

References

- 1 Dimitrakopoulos FI, Antonacopoulou AG, Kottorou A, Marousi S, Koukourikou I, Kalofonou M, Panagopoulos N, Scopa C, Dougenis D, Papadaki H, Papavassiliou AG, Kalofonos HP. Variant of BCL3 gene is strongly associated with five-year survival of non-small-cell lung cancer patients, *Lung cancer*, 89(3),311-319 (2015) doi: 10.1016/j.lungcan.2015.06.006.
- 2 Nanavaty P, Alvarez MS, Alberts WM. Lung cancer screening: advantages, controversies, and applications, *Cancer Control*, 21(1),9-14 (2014)doi: 10.1177/107327481402100102
- 3 Jemal A., Siegel R., Ward E. Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, *CACancer Journal for Clinicians*, 56(2), 106-30 (2006)
- 4 Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence, *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 56(2),3-9 (2004)doi: 10.1016/j.lungcan.2004.07.998
- 5 Bersimbaev RI, Bulgakova O. The health effects of radon and uranium on the population of Kazakhstan. *Genes Environ*, 37,18 (2015) doi:10.1186/s41021-015-0019-3
- 6 Koshiol J, Rotunno M, Consonni D, Pesatori AC, De Matteis S, Goldstein AM, Chaturvedi AK, Wacholder S, Landi MT, Lubin JH, Caporaso NE. Chronic obstructive pulmonary disease and altered risk of lung cancer in a population-based case-control study, *PLoS One*, 4(10),7380 (2009)doi: 10.1371/journal.pone.0007380.
- 7 Koti M, Gooding RJ, Nuin P, Haslehurst A, Crane C, Weberpals J, Childs T, Bryson P, Dharsee M, Evans K, Feilotter HE, Parkand PC. Identification of the IGF1/PI3K/NF?B/ERK gene signalling networks associated with chemotherapy resistance and treatment response in high-grade serous epithelial ovarian cancer, *BMC Cancer*, 13,549 (2013)
- 8 Chen W, Li Z, Bai L, and Lin Y. NF-?B in lung cancer, a carcinogenesis mediator and a prevention and therapy target, *Frontiers in Bioscience*, 1(16), 1172-85 (2011)
- 9 Pikarsky E and Ben-Neriah Y. NF-kappaB inhibition: a double-enged sword in cancer? *European journal of cancer*, 42(6), 779-84 (2006) doi: 10.1016/j.ejca.2006.01.011
- 10 Yang G, Abate A, George AG, Weng YH, Dennery PA. Maturation differences in lung NF-kappaB activation and their role in tolerance to hyperoxia, *J Clin Invest*, 114(5), 669-78 (2004) doi: 10.1172/JCI19300
- 11 Moodie FM, Marwick JA, Anderson CS, Szulakowski P, Biswas SK, Bauter MR, Kilty I, Rahman I. Oxidative stress and cigarette smoke alter chromatin remodeling but differentially regulate NF-kappaB activation and proinflammatory cytokine release in alveolar epithelial cells, *FASEB J*, 18(15), 1897-9 (2004) doi: 10.1096/fj.04-1506fje
- 12 DiDonato JA, Mercurio F, Karin M. NF-ιB The link between inflammation cancer, *Immunol Rev*, 246(1), 379-400 (2012)doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01099.x.
- 13 Eiri N, Vizoso FJ. Inflammation cancer, *World J Gastrointest Surg*, 4(3), 62-72(2012) doi: 10.4240/wjgs.v4.i3.62.
- 14 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: A key role in inflammatory diseases, *J Clin Invest*, 107(1), 7-11(2001)doi: 10.1172/JCI11830
- 15 Gu L, Wang Z, Zuo J, Li H, Zha L. Prognostic significance of NF-ιB expression in non-small cell lung cancer: A meta-analysis *PLoS One*, 13(5), 0198223(2018) doi: 10.1371/journal.pone.0198223.
- 16 Li N, Karin M. Ionizing radiation and short wavelength UV activate NF-kappaB through two distinct mechanisms, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(22), 13012-7 (1998)doi: 10.1073/pnas.95.22.13012

- 17 Chen W, Li Z, Bai L and Lin Y. NF-kappaB, a mediator for lung carcinogenesis and a target for lung cancer prevention and therapy, *Front Biosci.*, 16, 1172-85 (2011)
- 18 Grosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle, *Cell*, 109, 81-96 (2002)
- 19 Hayden MS, Ghosh S. NF-kappaB, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions, *Genes Dev.*, 26(3), 203-34 (2012) doi: 10.1101/gad.183434.111.
- 20 Li YZ, Zhao P. Expressions and clinicopathologic significance of Id2 and NF-kB/p65 in gastric cancer, *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.*, 98(11), 846-850 (2018) doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.11.011
- 21 <http://www.rcsb.org/3d-view/2I9T>
- 22 Hinz M, Arslan SC, Scheidereit C. It takes two to tango: IkappaBs, the multifunctional partners of NF-kappaB, *Immunol Rev.*, 246(1), 59-76 (2012) doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01102.x.
- 23 Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB, *Genes Dev.*, 18(18), 2195-224 (2004) doi: 10.1101/gad.1228704
- 24 Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways, *Nat. Immunol.*, 12(8), 695-708 (2011) doi: 10.1038/ni.2065
- 25 Festjens N, Vanden Berghe T, Cornelis S, Vandenabeele P. RIP1, a kinase on the crossroads of a cell's decision to live or die, *Cell Death Differ.*, 14(3), 400-10 (2007) doi: 10.1038/sj.cdd.4402085
- 26 Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF-kappaB and the immune response *Oncogene.*, 25(51), 6758-80 (2006) doi: 10.1038/sj.onc.1209943
- 27 Devin A, Cook A, Lin Y, Rodriguez Y, Kelliher M, Liu Z. The distinct roles of TRAF2 and RIP in IKK activation by TNF-R1: TRAF2 recruits IKK to TNF-R1 while RIP mediates IKK activation, *Immunity*, 12(4), 419-29 (2000)
- 28 Yang J, Lin Y, Guo Z, Cheng J, Huang J, Deng L, Liao W, Chen Z, Liu Z, Su B. The essential role of MEKK3 in TNF-induced NF-kappaB activation, *Nat Immunol.*, 2(7), 620-4 (2001). doi: 10.1038/89769
- 29 Thomas G. Brock. NF- κ B, Cayman chemical.-2012 Available at: <https://www.caymanchem.com/news/nfkbistart=4>
- 30 Busino L, Millman SE, Pagano M. SCF-mediated degradation of p100 (NF- κ B2): mechanisms and relevance in multiple myeloma, *Sci Signal.*, 5(253), 14 (2012) doi: 10.1126/scisignal.2003408.
- 31 Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity, *Trends Immunol.*, 25(6), 280-8 (2004) doi: 10.1016/j.it.2004.03.008
- 32 Kato T, Jr, Delhase M, Hoffmann A, Karin M. CK2 Is a C-Terminal IkappaB Kinase Responsible for NF-kappaB Activation during the UV Response, *Mol Cell.*, 12(4), 829-39 (2003)
- 33 Bruno P.B. Pires, Rafael C.M.C. Silve, Gerson M. Ferreira and E. Abdelhay. NF-kappaB: Two sides of the same coin, *Genes (Basel)*, 9(1), 24 (2018) doi: 10.3390/genes9010024.
- 34 Hoesel B, Schmid J. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer, *Mol cancer*, 12, 86 (2013) doi: 10.1186/1476-4598-12-86.
- 35 Campbell KJ, Rocha S, Perkins ND. Active repression of antiapoptotic gene expression by RelA(p65) NF-kappa B, *Mol Cell.*, 13(6), 53-65 (2004)
- 36 Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S, Scheller J, Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L, Karin M. IL-6 and STAT3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer, *Cancer cell.*, 15(2), 103-13 (2009) doi: 10.1016/j.ccr.2009.01.001.
- 37 Simone V De, Franze E, Ronchetti G, Colantoni A, Fantini MC, Di Fusco D, Sica GS, Sileri P, MacDonald TT, Pallone F, Monteleone G, Stolfi C. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF- α synergistically activate STAT3 and NF- κ B to promote colorectal cancer cell growth, *Oncogene.*, 34(27), 3493-503 (2015) doi: 10.1038/onc.2014.286.
- 38 Zhang X, Yue P, Page BD, Li T, Zhao W, Namanja AT, Paladino D, Zhao J, Chen Y, Gunning PT, Turkson J. Orally bioavailable small molecule inhibitor of transcription factor STAT3 regresses human breast and lung cancer xenografts, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 109(24), 9623-8 (2012) doi: 10.1073/pnas.1121606109.
- 39 Haley K J, Zhang F, Enanual L and Sunday M. Tumor necrosis factor includes neuroendocrine differentiation in small cell lung cancer cell lines, *American Journal of Physiology*, 275 (1998)
- 40 Zhou W, Chen X, Hu Q, Chen X, Chen Y, Huang L. Galectin-3 activates TLR4/NF- κ B signaling to promote lung adenocarcinoma cell proliferation through activating lncRNA-NEAT1 expression, *BMC Cancer.*, 18(1), 580 (2018) doi: 10.1186/s12885-018-4461-z
- 41 Dong P, Xiong Y, Yue J, Hanley SJB, Kobayashi N, Todo Y, Watari H. Long non-coding rna neat1: a novel target for diagnosis and therapy in human tumors, *Front Genet.*, 9, 471 (2018) doi: 10.3389/fgene.2018.00471.
- 42 Zhu Y, Zhou Y, Zhou X, Guo Y, Huang D, Zhang J, Wang C, Cai L. S100A4 suppresses cancer stem cell proliferation via interaction with the IKK/NF- κ B signaling pathway, *BMC Cancer.*, 18(1), 763 (2018) doi: 10.1186/s12885-018-4563-7.
- 43 Lin Y, Bai L, Chen W, Xu S. The NF-kappaB activation pathways, emerging molecular targets for cancer prevention and therapy, *Expert Opin Ther Targets.*, 14(1), 45-55 (2010) doi: 10.1517/14728220903431069.
- 44 Karin M, Lin A. NF-kappaB at the crossroads of life and death, *Nat Immunol.*, 3(3), 221-7 (2002) doi: 10.1038/ni0302-221
- 45 Kaltschmidt B, Kaltschmidt C, Hofmann TG, Hehner SP, Droge W, Schmitz ML. The pro- or anti-apoptotic function of NF-kappaB is determined by the nature of the apoptotic stimulus, *Eur J Biochem*, 267(12), 3828-35 (2000)
- 46 Akgun S, Kucuksayan H, Ozes ON, Can O, Alikanoglu AS, Yildiz M, Akca H. NF- κ B upregulation of miR-548as-3p increases invasion of NSCLC by targeting PTEN, *Anticancer Agents Med Chem.*, (2019) doi: 10.2174/1871520619666190206165215.

- 47 Pollet I, Opina CJ, Zimmerman C, Leong KG, Wong F, Karsan A. Bacterial lipopolysaccharide directly induces angiogenesis through TRAF6-mediated activation of NF-kappaB and c-Jun N-terminal kinase, *Blood.*, 102(5),1740-2 (2003)doi: 10.1182/blood-2003-01-0288.
- 48 DeBusk LM, Massion PP, Lin PC. IkappaB kinase-alpha regulates endothelial cell motility and tumor angiogenesis, *Cancer Res.*, 68(24),10223-8 (2008)doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1833.
- 49 Schaafhausen MK, Yang WJ, Centanin L, Wittbrodt J, Bosserhoff A, Fischer A, Scharthl M, Meierjohann S. Tumor angiogenesis is caused by single melanoma cells in a manner dependent on reactive oxygen species and NF-kappaB, *J Cell Sci.*, 126(17),3862-72 (2013) doi: 10.1242/jcs.125021.
- 50 Brown M, Cohen J, Arun P. NF-kappaB in carcinoma therapy and prevention, *Expert Ther Target.*, 12(9),1109-22 (2008)doi: 10.1517/14728222.12.9.1109 .
- 51 Le F, Zhang J, liu W, Huang X, Luo W. The levels of NF-kB p50 and NF-kB p65 play pole in thyoid carcionjma malignancy in vivo, *Journal of International Medical Research.*, (2018) doi:10.1177/0300060518785846
- 52 Ricca A, Biroccio A, Trisciuglio D, Cippitelli M, Zupi G, Del Bufalo D. relA over-expression reduces tumorigenicity and activates apoptosis in human cancer cells, *Br J Cancer.*, 85(12),1914-21 (2001) doi: 10.1054/bjoc.2001.2174
- 53 Chariot A. The NF-iB-independent functions of IKK subunits in immunity and cancer, *Trends Cell Biol.*, 19(8),404-13 (2009) doi: 10.1016/j.tcb.2009.05.006.
- 54 Sun F, Qu Z, Xiao Y, Zhou J, Burns TF, Stabile LP, Siegfried JM and Xiao G. NF-iB1 p105 suppresses lung tumorigenesis through the Tpl2 kinase but independently of its NF-?B function, *Oncogene*, 35(18),2299-310 (2016) doi: 10.1038/onc.2015.299.
- 55 Xing A, Pan L, Gao J. p100 functions as a metastasis activator and is targeted by tumor suppressing microRNA-320a in lung cancer, *Thorac Cancer.*, 9(1), 152-158 (2018) doi: 10.1111/1759-7714.12564.
- 56 Williams V, Grosset AA, Zamorano Cuervo N, St-Pierre Y, Sylvestre MP, Gaboury L, Grandvaux N. Detection of IKKi by immunohistochemistry in primary breast cancer: association with EGFR expression and absence of lymph node metastasis, *BMC Cancer.*, 17(1),356 (2017) doi: 10.1186/s12885-017-3321-6.
- 57 Karin M, Greten FR. NF-?B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression, *Nat Rev Immunol.*, 5(10),749-59 (2005)doi: 10.1038/nri1703
- 58 Chen W, Wang X, Bai L, Liang X, Zhuang J, Lin Y. Blockage of NF-kappaB by IKKbeta- or RelA-siRNA rather than the NF-kappaB super-suppressor IkappaBalp mutant potentiates adriamycin-induced cytotoxicity in lung cancer cells, *J Cell Biochem.*, 105(2),554-61 (2008)doi: 10.1002/jcb.21856.
- 59 Fusco F, Pescatore A, Bal E, Ghouli A, Paciolla M, Lioi MB, D'Urso M, Rabia SH, Bodemer C, Bonnefont JP, Munnich A, Miano MG, Smahi A, Ursini MV. Alterations of the IKBKG locus and diseases: an update and a report of 13 novel mutations, *Hum Mutat.*, 29(5),595-604 (2008) doi: 10.1002/humu.20739.
- 60 Sun SC, Ganchi PA, Ballard DW, Greene WC. NF-kappa B controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory pathway, *Science*, 259(5103), 1912-5 (1993)
- 61 Kazuyuki I, Byung RL, Atsuki F, Makio I. IkB-i-specific transcript regulation by the C-terminal end of c-Rel, *FEBS letters.*, 579(1),141-4 (2004) doi: 10.1016/j.febslet.2004.11.060
- 62 Derudder E, Laferti A, Ferreira V, Mishal Z, Baud V, Tarantino N, Kirner M. Identification and characterization of p100HB, a new mutant form of p100/NF-kappa B2, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 308(4),744-9 (2003)
- 63 Kim KE, Gu C, Thakur S, Vieira E, Lin JC, Rabson A. B. Transcriptional regulatory effects of lymphoma-associated NFKB2/lyt10 protooncogenes, *Oncogene*, 19(10),1334-45 (2000) doi: 10.1038/sj.onc.1203432
- 64 Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (2018).
Available at: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=6400175>.
- 65 Campbell KJ, Witty JM, Rocha S, Perkins ND. Cisplatin mimics ARF tumor suppressor regulation of RelA (p65) nuclear factor-iB transactivation, *Cancer Res.*, 66(2),929-35 (2006) doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2234
- 66 Bu Y, Li X, He Y, Huang C, Shen Y, Cao Y, Huang D, Cai C, Wang Y, Wang Z, Liao DF, Cao D. A phosphomimetic mutant of RelA/p65 at Ser536 induces apoptosis and senescence: An implication for tumor-suppressive role of Ser536 phosphorylation, *Int J Cancer.*, 138(5),1186-98 (2016) doi: 10.1002/ijc.29852.
- 67 Butterworth JA, Moles A, Sanchez A, Hunter JE, Leslie J, Sellier H, Tiniakos D, Cockell SJ, Mann DA, Oakley F, Perkins ND. A RelA(p65) Thr505 phospho-site mutation reveals an important mechanism regulating NF-B-dependent liver regeneration and cancer, *Oncogene.*, 35(35),4623-32 (2016)doi: 10.1038/onc.2015.526.
- 68 Feng Y, Yang C, Hu D, Wang X, Liu X. miR-675 promotes disease progression of non-small cell lung cancer via activating NF-iB signaling pathway, *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).*, 63(5),7-10 (2017) doi: 10.14715/cmb/2017.63.5.2.
- 69 Dong J, Jimi E, Zhong H, Hayden MS, Ghosh S. Repression of gene expression by unphosphorylated NF-?B p65 through epigenetic mechanisms, *Genes Dev.*, 22(9),1159-73 (2008) doi: 10.1101/gad.1657408.
- 70 Scadden AD, The RISC subunit Tudor-SN binds to hyper-edited double-stranded RNA and promotes its cleavage, *Nat Struct Mol Biol.*, 12(6),489-96 (2005)doi: 10.1038/nsmb936
- 71 Blanco MA, Aleikovii M, Hua Y, Li T, Wei Y, Xu Z, Cristea IM, and Kang Y. Identification of staphylococcal nuclease domain-containing 1 (snd1) as a metadherin-interacting protein with metastasis-promoting functions, *J Biol Chem.*, 286(22),19982-92 (2011) doi: 10.1074/jbc.M111.240077.
- 72 Stathopoulos GT, Sherrill TP, Han W, Sadikot RT, Polosukhin VV, Fingleton B, Yull FE, Blackwell TS. Use of bioluminescent imaging to investigate the role of nuclear factor-kappaBeta in experimental non-small cell lung cancer metastasis, *Clin Exp Metastasis.*, 25(1),43-51 (2008)

- 73 Shiels MS, Engels EA, Shi J, Landi MT, Albanes D, Chatterjee N, Chanock SJ, Chaturvedi CK and Chaturvedi AK. Genetic variation in innate immunity and inflammation pathways associated with lung cancer risk, *Cancer*, 118(22),5630-6 (2012) doi: 10.1002/cncr.27605.
- 74 Oltulu YM, Coskunpinar E, Ozkan G, Aynaci E, Yildiz P, Isbir T, and Yaylim I. Investigation of NF- κ B1 and NF- κ BIA gene polymorphism in non-small cell lung cancer, *BioMed.*, 530381 (2014) doi: 10.1155/2014/530381.
- 75 Fu W, Zhuo ZJ, Chen YC, Zhu J, Zhao Z, Jia W, Hu JH, Fu K, Zhu SB, He J, Liu GC. NFKB1 -94insertion/deletion ATTG polymorphism and cancer risk: Evidence from 50 case-control studies, *Oncotarget*, 8(6), 9806-9822 (2017)doi: 10.18632/oncotarget.14190.
- 76 Huang D, Yang L, Liu Y, Zhou Y, Guo Y, Pan M, Wang Y, Tan Y, Zhong H, Hu M, Lu W, Ji W, Wang J, Ran P, Zhong N, Zhou Y, Lu J. Functional polymorphisms in NFjB1/IjBa predict risks of chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer in Chinese, *Hum Genet.*, 132(4), 451-60 (2013) doi: 10.1007/s00439-013-1264-9.
- 77 Zhang JW, Chen QS, Zhai JX, Lv PJ, Sun XY. Polymorphisms in NF-iB pathway genes their association with risk of lung cancer in the Chinese population, *Pak J Med Sci.*, 31(6),1411-1416 (2015) doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.316.7935>

Сведения об авторах:

Ахметова Д.А. - студент бакалавриата кафедры Общей биологии и геномики, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Нур-Султан, Казахстан.

Булгакова О.В. - Доктор Ph.D, доцент кафедры общей биологии и геномики, Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Нур-Султан, Казахстан.

Akhmetova D.A. – student of the Department of General Biology and Genomics, L. N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

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

Поступила в редакцию 15.05.2019

Р.С. Ержебаева

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства»,
Алматы, Алматинская область, Казахстан
(E-mail: raushan_2008@mail.ru)

**Технология культуры изолированных микроспор тритикале
(× *Triticosecale* Wittmack)**

Аннотация: Тритикале (× *Triticosecale* Wittm.) является синтетическим гибридом пшеницы (*Triticum*) и ржи (*Secale*) и сочетает в себе ценные черты обоих родительских видов: высокая кормовая ценность и низкие требования к возделыванию. Для развития и ускорения селекции данной кормовой культуры в Казахстане актуальным является использование такого биотехнологического метода как андрогенез. Растения-дигаплоиды, полученные из микроспор обеспечивают самый быстрый способ получения гомозиготных линий. Культура изолированных микроспор (КИМ) – более трудоемкая технология по сравнению с культурой пыльников и требует оптимизации всех факторов и условий на каждом этапе процедуры. Для внедрения технологии КИМ в отечественные селекционные программы необходимо применение уже имеющихся протоколов и отработка критических точек непосредственно на селекционном материале тритикале. Целью данного исследования является оптимизация всех этапов современного метода гаплоидной технологии культуры изолированных микроспор на сортах и линиях тритикале отечественной селекции и получение дигаплоидных линий. Технология культуры изолированных микроспор была апробирована на 6 образцах тритикале (Т-434-2, Т-968, Т-45, Зернокормовое 5, ЯТХ-18-11, ЯТХ-327-11). Отработаны критические точки протокола. Подобрана питательная среда для индукции эмбриогенеза (mW14) при использовании которой получено до 233 АС и 12,2 шт. зеленых растений на 100 пыльников. Процесс спонтанного удвоения составил 23,1%. Комбинированное применение (спонтанное удвоение, колхицинирование) позволило повысить производство дигаплоидных линий до 50,6%. Данный процентный выход позволяет обеспечить селекционеров достаточным количеством дигаплоидных линий из одной гибридной комбинации или линии.

Ключевые слова: тритикале, культура изолированных микроспор, андрогенные структуры, регенерация, плоидность, дигаплоидное растение.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-24-33>

Введение. Тритикале (× *Triticosecale* Wittm.) является одним из наиболее важных зерновых культур в Европе и некоторых других регионах мира. Будучи синтетическим гибридом пшеницы (*Triticum*) и ржи (*Secale*), он сочетает в себе ценные черты обоих родительских видов: высокая кормовая ценность и низкие требования к возделыванию. Как и для других сельскохозяйственных культур, использование и расширение площадей тритикале зависит от селекционных программ и обеспечения новыми, высокоурожайными сортами с улучшенной полезностью или высокой адаптивностью к условиям окружающей среды. Традиционные программы селекции относительно трудоемки, поскольку они основаны на нескольких этапах скрещивания, инбридинга и отбора в гибридных популяциях. Для тритикале этот процесс длится от 10 до 12 лет. Регистрация нового сорта занимает еще несколько лет. Изменчивость на генетическом уровне может быть исправлена за короткое время с использованием технологии гаплоидии, путем получения полностью гомозиготных линий из гетерозиготного исходного материала. Сегодня этот метод считается незаменимым инструментом в селекционных программах тритикале Европы [1]. Применение данной технологии актуально и для Казахстана, так как селекция этой перспективной культуры только развивается. Однако успешное использование гаплоидной технологии зависит от производства большого количества гаплоидных растений и эффективного удвоения хромосом.

В настоящее время культура изолированных микроспор является наиболее прогрессивным методом андрогенеза. Микроспоры могут быть выделены в больших количествах, обеспечивая

множество потенциально эмбриогенных одиночных гаплоидных клеток. Исключается возможность образования каллусов и эмбриоидов из стенок пыльника и их дальнейшая регенерация.

По данным исследователей эффективность основных методов андрогенной технологии тритикале зависит от таких факторов как генотип, условия выращивания, время сбора донорных растений, использование предварительной обработки (холод, тепло, голодание) [2-6] и состав питательной среды [2,3,6,7,8]. Наиболее успешными и рекомендуемыми питательными средами для КИМ тритикале являются модифицированные среды: W14mi [9], m190 -2 [2,5], СНВ-3 [3] и С17[1].

КИМ – более трудоемкая технология по сравнению с культурой пыльников и требует оптимизации всех факторов и условий на каждом этапе процедуры. Для внедрения технологии КИМ в селекционных программах необходимо применение уже имеющихся протоколов и отработка критических точек непосредственно на селекционном материале казахстанской селекции тритикале.

Цель данного исследования – оптимизация всех этапов современного метода гаплоидной технологии культуры изолированных микроспор на сортах и линиях тритикале отечественной селекции и получение дигаплоидных линий.

Материал и методика исследований. В качестве материала исследований были использованы селекционные линии питомника конкурсного сортоиспытания и сорта озимой (Т-968, Т-45, Т-434, Зерно кормовое 5) тритикале селекции Казахского НИИ земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР) и яровой тритикале совместной селекции КазНИИЗиР с Институтом растениеводства им. Юрьева (г.Харьков) – ЯТХ-327-11 и ЯТХ-18-11.

Донорные растения были выращены в полевых условиях на научном полевом стационаре отдела зерновых культур КазНИИЗиР. Незрелые соцветия отбирались с донорных растений тритикале в фазе флагового листа, не вышедшего из листового влагалища, с микроспорами находящимися на средней и поздней одноядерной стадиях развития. Оценка стадии развития микроспор определялась по общепринятой методике временных давленных препаратов на микроскопе Meiji Techno серии МТ4000.

Предварительная холодовая обработка проводилась в течение 14 дней в климатической камере BINDER KBWF 720 при температуре +4 °С [9].

Стерилизация колосьев. Колосья полевых растений после холодовой обработки стерилизовали тремя способами: 1 способ – 2 % раствор гипохлорида натрия с каплей Твин 80 в течение 20 мин [2,9]; 2 способ – 70% раствором этанола в течение 1 мин и 10% гипохлоридом натрия [10]; 3 способ - 0,1% раствора дихлорида ртути в течение 6 минут на шейкере [11]. После воздействия стерилизующего агента экспланты трижды промывали стерильной дистиллированной водой в ламинарном боксе по 3 минуты. *Культивирование изолированных микроспор* осуществлялось по протоколу для пшеницы описанной С. Lantos [8]. Из стерилизованных соцветий острым пинцетом (ISOLAB, длина 105 мм) были выделены пыльники и перенесены в пластиковые чашки Петри (диаметром в 55 мм), содержащие 5 мл 0,3 М раствора маннита и 200 мг/л антибиотик (цефотаксим). В каждую чашку Петри введено по 100 пыльников, которые в течение трех дней инкубировались при температуре 32 °С в темноте. Стерилизация пинцетов проводилась каждые 2 мин. электрическим стерилизатором SteriMax (температура стерилизации 900-950 °С).

После инкубации проведена очистка и изоляция микроспор согласно протоколу [8] с небольшими модификациями описанными в разделе результаты.

На протяжении процесса выделения и после переноса в культуральную среду проводились наблюдения за состоянием микроспор на микроскопе Meiji Techno серии МТ4000.

Для индукции эмбриогенеза было использовано 3 вида модифицированных питательных сред:

- mW14 [12] + 1000 мг/л глутамин + 90 г/л мальтозы [13], 2 мг/л 2,4-Д + 0,4 мг зеатин + 50 г/л фиколл 400 + 2 мг/л аскорбиновой кислоты, рН – 6,2
- mCHВ [14] + 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,4 мг зеатин + 90 г/л мальтозы + 500 мг/л PhytigelTM (SIGMA) + 2 мг/л аскорбиновой кислоты, рН – 6,2

- mMS [15] + 2 мг/л 2,4Д, + 0,5 мг/л кинетин + 90 г/л мальтозы + 50 г/л фиколл + 4 мг/л аскорбиновой кислоты, pH – 6,4 [11]

Для регенерации была использована стандартная среда Мурасиге и Скуга (MS) с добавлением зеатин 3 мг/л, 30 г/л сахарозы и 3 г/л Phytogel™.

Для корнеобразования стандартная среда MS с добавлением 0,5 г/л казеина гидролизата, 20 г/л сахарозы, 2 мг/л ИУК, 4 г/л Phytogel™ [11].

Определение плоидности проводили на анализаторе плоидности Cy Flow Ploidy Analyser (Sysmex). Плоидность определяли перед переносом растений-регенерантов в почву. Подготовку проб растений для анализа проводили с использованием набора CyStain®UV Precise P.

Адаптацию растений-регенерантов к почве проводили в климатической камере BINDER KBWF 720, где поддерживались температурный режим 23-24 °C, освещение 8-10 тыс. люкс и 80% влажности. В течение первых двух недель (период адаптации) растения-регенеранты опрыскивали раствором фитогормонов (0,5 мг/л кинетин, 2 мг/л гиббереллиновая кислота, 3 мг/л никотинамид) и поливали раствором воды, содержащим макро- и микро- соли, хелат железа по прописи Мурасиге и Скуга.

Обработка колхицином. Для удвоения хромосом корни гаплоидных растений были погружены в 0,05% водный раствор колхицина с добавлением 2% ДМСО и 10 мг/л гиббереллиновой кислоты в течение 5 ч при освещении. После обработки корни были промыты проточной водой и растения высажены в почву.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы Statistica 10 (Портативная версия). Проведен дисперсионный анализ ANOVA (*Analysis of variation*). Результаты исследований.

Технология культуры изолированных микроспор на первоначальном этапе была апробирована на 6 образцах тритикале (Т-434-2, Т-968, Т-45, Зернокормовая 5, ЯТХ-18-11, ЯТХ-327-11). Были отмечены 3 критические точки протокола: 1) высокая контаминация (до 40%) при культивировании пыльников на растворе маннита и при изоляции микроспор; 2) трудоемкий процесс изоляции микроспор; 2) низкий уровень регенерации зеленых растений. Стерилизация эксплантов. Отработана первая критическая точка протокола по стерилизации эксплантов, изолированию пыльников и введению в культуру *in vitro*. Использование колосьев тритикале, выращенных и собранных в полевых условиях, приводили к высокому уровню заражения раствора D-маннита (до 40-45%). Эксперимент с тремя способами стерилизации показал, что при стерилизации 2% раствором гипохлорита натрия зафиксировано грибковое и бактериальное заражение в 40% чашек Петри с пыльниками в растворе D-маннита (таблица 1).

Таблица 1 – Отработка процесса стерилизации донорных колосьев тритикале

Наименование	Количество посаженных чашек Петри на каждый способ/%	Количество чашек Петри с контаминацией /%		
		1 способ	2 способ	3 способ
Т-434-2	20/100	6/30	7/35	1/5
Т-968	20/100	8/40	4/20	2/10
Т-45	20/100	9/45	8/40	1/5
Зернокормовое 5	20/100	8/40	7/35	2/10
ЯТХ-18-11	20/100	10/52	6/30	2/10
ЯТХ-327-11	20/100	7/35	5/25	1/5
Итого:	120/100	48/40	37/30,8	9/7,5

Второй способ стерилизации обеспечивал до 69,2% стерильности. Использование 0,1% раствора дихлорида ртути и добавление в раствор маннитола антибиотика цефотаксим исключило процесс контаминации и позволило получить 92,5% чистоту опыта.

Проведенный дисперсионный анализ, показал значимые ($F = 45,3$) и достоверные ($P = 0,000$) различия между средними значениями трех способов стерилизации колосьев тритикале, таблица 2.

Таблица 2 – Дисперсионный анализ различных способов стерилизации эксплантов *ANOVA (Analysis of variation)*

Эффект	Средний квадрат (<i>MS эффект</i>)	F - критерий	P - уровень
Intercept	490,88	329,7	0,0000
Способ стерилизации	67,3	45,3	0,0000
Ошибка	1,4		

Отработан второй важный этап данной технологии – изолирование микроспор. Осуществлен переход от измельчения пыльников на гомогенизаторе на гомогенизацию с использованием стеклянной палочки и стерильного металлического сита (диаметр внутренней окружности 4,5 см) с диаметром пор 1 мм (рисунок 1б). Полученный гомогенат отфильтровывали через нейлоновый фильтр с размером поры 100 мкм (Tokyo Screen Co, LTD, Japan) для удаления крупных частиц. Фильтрат суспензии тканей и микроспор центрифугировали (центрифуга CM-6M, Sky Line) при скорости 100 g в течение 3 минут. После удаления супернатанта к осадку добавляли 21% раствор мальтозы (SIGMA) и 0,3 М маннита D для создания градиента плотности. После центрифугирования в течение 5 минут при скорости 100 g жизнеспособные микроспоры собираются на границе маннит/мальтоза, образуя «кольцо» (рисунок 1в). Интактные микроспоры собирали стерильной пипеткой Пастера и переносили в чашки Петри диаметром 3 см с добавлением питательной среды для индукции эмбриогенеза объемом 1,5 мл. Плотность микроспор доводилась до $1,5 \times 10^4 - 2 \times 10^4$ на 1 миллилитр питательной среды. В чашку с микроспорами добавляли завязи (8-10 шт/чашка Петри, которые культивировались отдельно в той же питательной среде без термальной обработки и антибиотик цефотаксим в концентрации 200 мг/л.

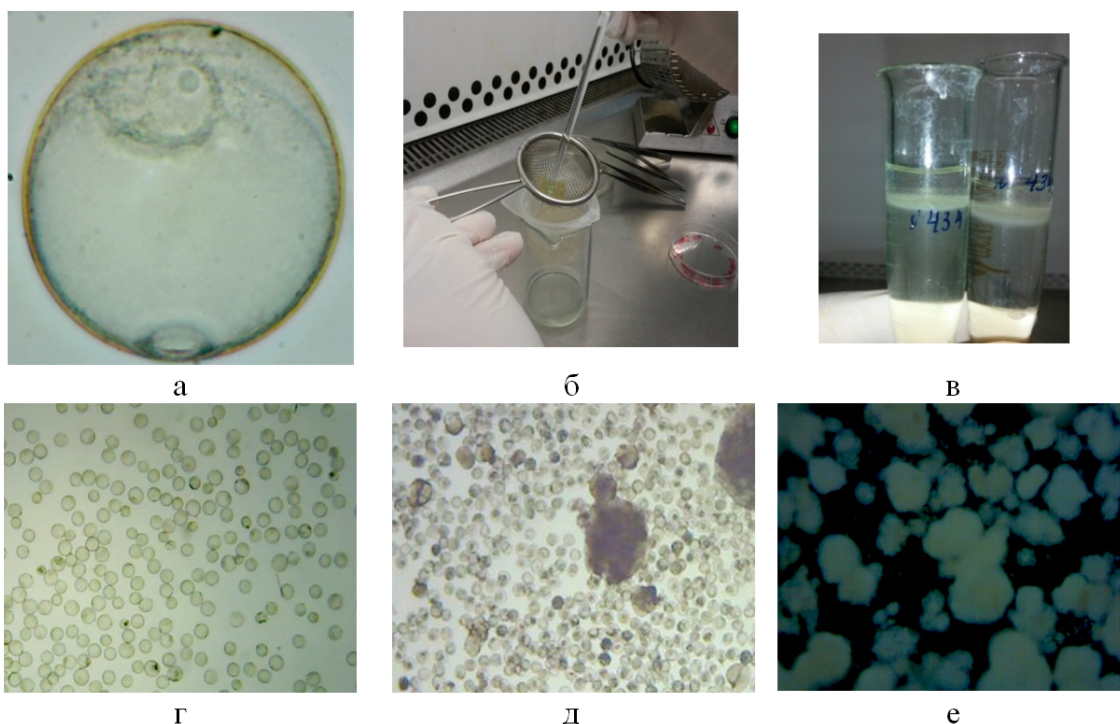


Рисунок 1 – Очистка и культивирование микроспор в КИМ

а - микроспора (увеличение $\times 1000$) после содержания в манните, б – гомогенизация пыльников на металлическом сите; в - «кольцо» живых микроспор в градиенте маннит/мальтоза, г – живые микроспоры из образованного «кольца» (увеличение $\times 40$); д, е – формирование андрогенных структур (увеличение $\times 40$)

Отработана третья критическая точка протокола. Питательные среды, подобранные для индукции эмбриогенеза в культуре пыльников тритикале были применены в культуре изолированных микроспор. Наиболее высокий уровень образования андрогенных структур был зафиксирован на питательной среде mW14 (233АС/100 пыльников), таблица 3. Из андрогенных структур пересаженных из среды mW14 на агаризованную среду для регенерации в среднем регенерировало до 12,2 зеленых растений/100 пыльников. Технология культуры изолированных микроспор на питательной среде mCHB так же показала высокие результаты (таблица 3). В среднем по разным генотипам на данной питательной среде формировалось 173,3 АС/100 пыльников и регенерировало 10,2 шт. зеленых растений (рисунок 2а). Наиболее высокая регенерация зеленых растений по всему опыту была отмечена у генотипа Т-45 – 16 зеленых растений /100 пыльников.

Таблица 3 – Эмбриогенез и регенерация зеленых растений в культуре изолированных микроспор тритикале

Наименование	Кол-во чашек Петри на каждую среду/общее число	mW14		mCHB		mMS	
		АС/100 пыльников	зеленых растений/100 пыльников	АС/100 пыльников	зеленых растений/100 пыльников	АС/100 пыльников	зеленых растений/100 пыльников
Т-434-2	5/15	200±30,4	14±4,5	100±26,7	12±3,6	90±16,8	5±1,4
Т-968	5/15	250±60,5	15±3,2	200±70,5	10±4,4	100±25,3	5±0,5
Т-45	5/15	300±65,4	16±4,6	220±15,6	14±4,8	150±20,7	4±1,6
Зернокормовое 5	5/15	150±24,7	14±7,2	110±20,5	12±3,2	100±30,2	6±1,1
ЯТХ-18-11	5/15	150±32,5	6±3,8	160±40,8	8±5,7	180±22,1	2±1,8
ЯТХ-327-11	5/15	350±20,6	8±5,5	250±34,5	5±4,6	200±30,4	2,0±0,4
сред.знач	30/90	233±74,5	12,2±3,7	173,3±55,3	10,2±2,9	136,7±42,6	4,0±1,5

Проведенный дисперсионный анализ, показал значимые и достоверные различия между средними значениями образования андрогенных структур ($P = 0,059$) и регенерации зеленых растений ($P=0,000$) на трех различных питательных средах (таблица 4).

Таблица 4 – Дисперсионный анализ (ANOVA) результатов эмбриогенеза и регенерации растений

Эффект	Средний квадрат (MS эффект)	F - критерий	P - уровень
<i>Эмбриогенез</i>			
Intercept	590422,2	141,47	0,0000
Питательная среда	14288,9	3,42	0,0595
Ошибка	4173,3		
<i>Регенерация зеленых растений</i>			
Intercept	1386,8	137,16	0,0000
Питательная среда	108,7	10,75	0,0012
Ошибка	10,1		

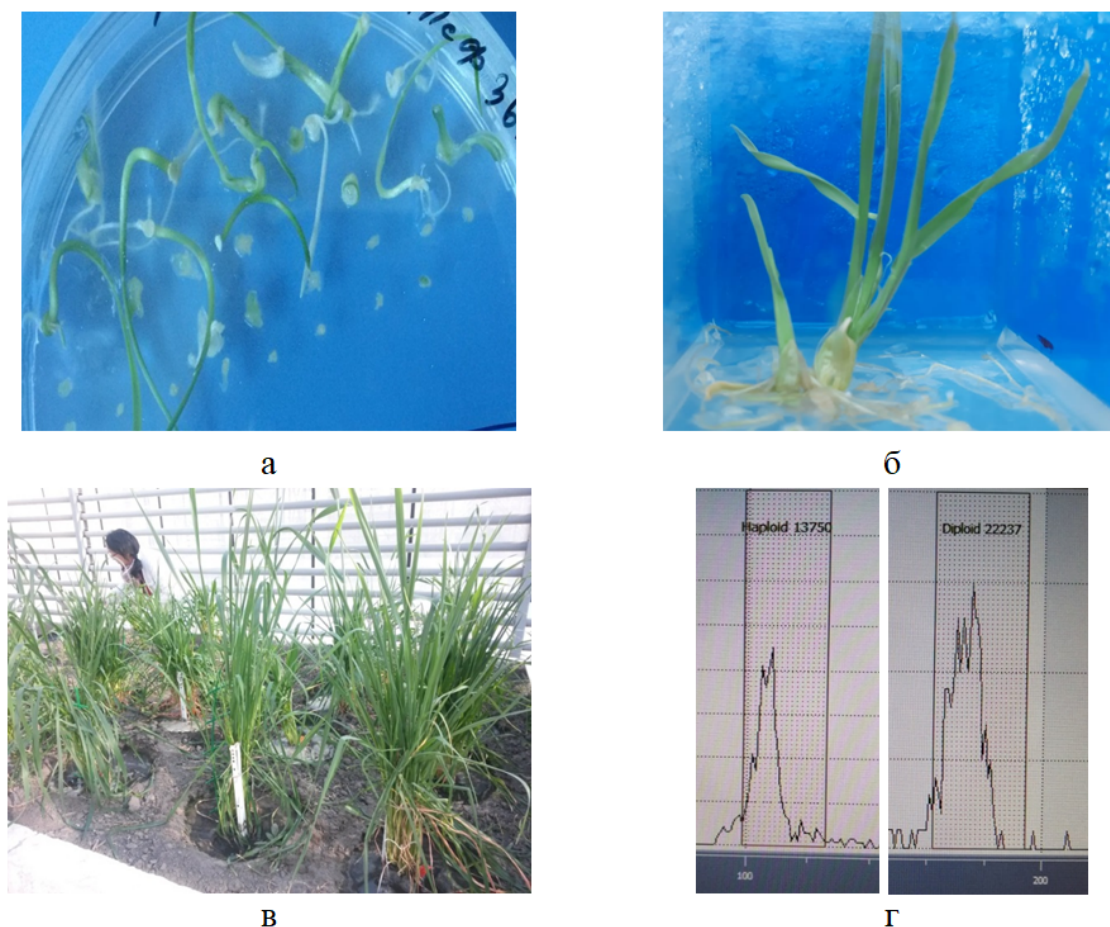


Рисунок 2 – Этапы КИМ по проработке зеленых растений и анализу плоидности

а – регенерация зеленых растений; б – укоренение растений; в – дигаплоидные растения тритикале в теплице; г – анализ плоидности

Хорошо укорененные растения были подвергнуты определению плоидности. Определение плоидности у 320 растений-регенерантов тритикале показало, что спонтанное удвоение зафиксировано у 74 растений, что составляет 23,1% (рисунок 2 г). 246 зеленых растений являлись гаплоидными. Все гаплоидные растения перед посадкой в грунт были обработаны раствором 0,1% колхицина для стимулирования удвоения хромосом.

74 дигаплоидные линии, полученные в результате спонтанного удвоения и растения после колхицинирования были адаптированы к грунту в условиях климатической камеры. В дальнейшем в тепличных условиях доведены до семян (рисунок 2 в). Анализ образования семян у колхицинированных растений показал только частичное формирование семян у 88 растений (3-5 зерен/колос). Гаплоидные растения были стерильными и семян не формировали. Все полученные дигаплоидные линии переданы в селекционный отдел для дальнейшей селекционной проработки.

Обсуждение. В технологии культуры изолированных микроспор очень важным фактором является соблюдение асептических условий, так как пассаж пыльников ведется в чашках Петри с достаточно большой поверхностью (диаметр 3,5 см) жидкой питательной среды. Изолирование из колоса и пассаж в одну чашку Петри 100 пыльников занимает в среднем 6-7 минут. Исследователи в большинстве случаев используют для стерилизации раствор гипохлорита натрия, гипохлорита кальция и спирт как более доступные стерилизующие агенты и спирт [1, 10, 16]. Однако при использовании в технологии КИМ полевого материала применение данных агентов показало свою среднюю эффективность. В наших экспериментах применение в качестве стерилизующего агента 0,1% дихлорида ртути и стерилизация пинцетов стерилизатором SteriMax позволили исключить процесс контаминации до 93%.

КИМ – более трудоемкая технология по сравнению с культурой пыльников и требует оптимизации всех факторов и условий на каждом этапе процедуры. Исследователями для гомогенизации используются различные виды гомогенизаторов [10, 14] с отдельной посудой и элементами гомогенизации, которые необходимо стерилизовать. После гомогенизации суспензия фильтруется через нейлоновые сита. В наших экспериментах, при использовании упрощенного элемента гомогенизации металлическое сито и нейлоновый фильтр сразу помещаются на химический стакан и гомогенат проходит фильтрацию без потерь микроспор.

Благоприятное влияние на развитие микроспор и важность правильного подбора плотности микроспор в питательной среде в виде суспензии были описаны для различных культур. У зерновых культур эти плотности варьировали от 4×10^4 в 1 мл среды в ячмене [17] и в тритикале до 1×10^5 в тритикале [2].

Манипуляции с плотностью содержания микроспор, а также плотностью андрогенных структур, полученных из них, позволяет оптимизировать процесс регенерации растений. Группа венгерских ученых доводит концентрацию микроспор тритикале до $3-3.5 \times 10^4$ [9]. В нашем исследовании мы пришли к выводу, что концентрация микроспор в среде очень важна. Плотность, которую мы использовали в культуре тритикале – $1,5 \times 10^4 - 2 \times 10^4$ микроспор на 1 миллилитр питательной среды, была наиболее эффективной.

В культурах с относительно низкой плотностью микроспор, зародышевые структуры развиваются хорошо, но эффективность низкая. Слишком высокая плотность клеток микроспор в среде приводят к высвобождению токсинов, которые ингибируют развитие микроспор в направлении эмбрионов [10]. Также, если микроспоры и полученные из микроспор многоклеточные структуры содержатся при высокой плотности, их развитие может быть замедленно из-за истощения индукционной среды.

Значительный успех достигнут в индукции эмбриогенеза в технологии КИМ тритикале несколькими группами ученых [9,10]. Эффективность их достигает до 300-400 андрогенных структур с одной чашки Петри. В наших экспериментах формирование андрогенных структур также было достаточно высоким и составило в среднем по разным генотипам на оптимизированной среде 233 АС/100 пыльников. На отдельных генотипах фиксировалось до 400 АС/100 пыльников. Все сформировавшиеся андрогенные структуры не используются для регенерации растений. Отбор проводили только из хорошо сформированных эмбриоидов. В питательную среду добавляли свежей среды и закрывали пленкой Parafilm «М» для дальнейшего формирования и их роста.

Альбинизм является серьезной проблемой в андрогенной технологии зерновых культур. Основные причины этого явления до сих пор неизвестны, хотя несколько теорий были предложены Feggi A. [18]. Высокая частота регенерации безхлорофильных растений была отмечена во многих работах [19,20]. Первая успешная регенерация тритикале с помощью изолированных микроспор дала более 50% растений безхлорофильных регенерантов [2]. Уменьшение регенерации альбиносных растений и повышение выхода зеленых растений способствуют увеличению эффективности технологии КИМ. В наших экспериментах в среднем по всем питательным средам и генотипам получено 8,8 шт/100 пыльников зеленых растений, у отдельных генотипов до 16 шт/100 пыльников, что сопоставимо с результативностью исследований по КИМ ведущих исследовательских групп Европы [2, 9].

Конечным результатом данной технологии является дигаплоидное растение. В связи с этим в отработанных протоколах по получению дигаплоидных растений осуществляют воздействие в ходе опыта температурными стрессами, способствующими спонтанному удвоению хромосом на ранних стадиях культивирования. Спонтанное удвоение позволяет исключить процесс колхичинирования, тяжело переносимый растениями-регенерантами. Многие исследователи отметили у тритикале низкий уровень спонтанного удвоения в культуре пыльников от 10 до 34% [19-20]. Опубликованы исследования по увеличению процента удвоения хромосом при добавлении колхичина в индукционную среду и среду для регенерации, на основании которых дупликация хромосом тритикале удалось повысить от 32 до 64,5% [1,21,22]. В наших опытах процесс спонтанного удвоения составил 23,1%. Комбинированное применение (спонтанное удвоение, колхичинирование) позволило повысить производство дигаплоидных линий до 50,6%.

Данный процентный выход позволяет обеспечить селекционеров достаточным количеством дигаллоидных линий из одной гибридной комбинации или линии.

Финансирование. Работа выполнена в рамках финансирования Комитета науки МОН РК по бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований» проекту ИРН № AP05132430.

Список литературы

- 1 Hlusarkiewicz-Jarzina A., Pudelska H., Wojna J., Pnirowski T. Improved production of doubled haploids of winter and spring triticale hybrids via combination of colchicine treatments on anthers and regenerated plants // J Appl Genetics – 2017. – Vol.58. – P.287. DOI:10.1007/s13353-016-0387-9.
- 2 Pauk J., Puolimatka M., Lukus Tyth K., Monoston T. *In vitro* androgenesis of triticale in isolated microspore culture // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2000. – Vol.61. – P. 221. DOI:10.1023/A:1006416116366
- 3 Eudes, F. & Amundsen, E. Isolated microspore culture of Canadian 6· triticale cultivars // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2005. – Vol. 82. – P. 233–244 DOI 10.1007/s11240-005-0867-9.
- 4 Gonzalez M., Hernandez I., Jouve N. Analysis of anther culture response in hexaploid triticale // Plant Breed. – 1997. – Vol.116. – P.302–304.
- 5 Zur I., Dubas E., Golemic E., Szechynska-Hebda M., Janowiak F., Wedzony M. Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale (X *Triticosecale* Wittmack) // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 2008. – Vol.94. – P.319–328. DOI: 10.1007/s11240-008-9360-6
- 6 Eudes F., Chug A. An overview of triticale doubled haploids. In: Touraev A, Forster BP, Jain SM (eds) Advances in haploid production in higher plants. – 2009. – Springer, Heidelberg, P. 87–96 DOI 10.1007/978-1-4020-8854-4_6.
- 7 Ponitka A, Slusarkiewicz Jarzina A (2007) The effect of liquid and solid medium on production of winter triticale (x *Triticosecale* Wittm.) anther-derived embryos and plants. // Cereal Research Communications. – Vol. 35. – P.15–22. DOI: 10.1556/CRC.35.2007.1.3
- 8 Lantos C., Jancso M., Pauk J. Microspore culture of small grain cereals // Acta Physiologiae Plantarum. – 2005. – Vol. 27. – P.631–639. DOI 10.1007/s11738-005-0067-6.
- 9 Lantos C., Bo L., Boda K., Pauk, J. Comparative analysis of in vitro anther- and isolated microspore culture in hexaploid Triticale (X *Triticosecale* Wittmack) for androgenic parameters, Euphytica. – 2014. -Vol.197. - P. 27–37. DOI 10.1007/s10681-013-1031-y
- 10 Oleszczuk S., Sowa S., Zimny J. Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale (x *Triticosecale* Wittmack) cv. Bogo // Plant Cell Reports. – 2004. – Vol.22. – P. 885–893. DOI 10.1007/s00299-004-0796-9.
- 11 Yezhebayeva R. S., Abekova A. M., Ainebekova B. A., Urazaliyev K. R., Bazylova T. A., Daniyarova A. K., and G. Kh. Bersimbayeva Influence of Different Concentrations of Ascorbic and Gibberellic Acids and pH of Medium on Embryogenesis and Regeneration in Anther Culture of Spring Triticale // Cytology and Genetics. – 2017. – Vol.51(6). – P.448–454. DOI: 10.3103/S0095452717060032.
- 12 Jia X., Zhuang J., Hu S., Ye C., Nie D. Establishment and application of the medium of anther culture of intergeneric hybridsof *Triticum aestivum*x *Triticum-Agropyron*. // Sci. Agri. Sinica. - 1994. – Vol. 27. – P. 83-87.
- 13 Lantos C., Póricsi S., Zofajova A., Weyen J., Pauk J. Isolated microspore culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) with Hungarian cultivars // Acta Biologica Szegediensis. - 2006. – Vol.50 (1-2) – P. 31-35.
- 14 Chu C. C., Hill R. D., Brule-Babel A. L. 1990. High frequencyof pollen embryoid formation and plant regeneration in *Triticum aestivum* L. on monosaccharide containing media // Plant Sci. – 1990. - Vol.66. - P.255-262.
- 15 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assay with Tobacco cultures // Physiol Plantarum. - 1962. - Vol. 15. - P. 473-475.
- 16 Lantos C., Pauk J. Anther Culture as an Effective Tool in Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) Breeding. Russian Journal of Genetics. – 2016. – Vol. 52 (8). – P. 794–801. DOI 10.1134/S102279541608007X.
- 17 Li H., Devaux P. Isolated microspore culture overperforms anther culture for green plant regeneration in barley (*Hordeum vulgare* L.) // Acta physiologiae plantarum.. - 2005. - Vol. 27. No. 4B. 2005: 611-619. DOI: 10.1007/s11738-005-0065-8
- 18 Ferri, A. M. R., Irmen, K. I., Beattie, A. D. Rossnagel, B. G. Isolated microspore culture of oat (*Avena sativa* L.) for the production of doubled haploids: effect of pre-culture and post-culture conditions // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2014. - Vol.116. -P.89–96. DOI 10.1007/s11240-013-0385
- 19 Tuveson S, von Post R, Ljungberg A Triticale anther culture. In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I (eds) Doubled haploid production in crop plants: manual book. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2003.- P. 117–122 DOI 10.1007/978-94-017-1293-4
- 20 Warzecha R, Sowa S, Salak-Warzecha K, Oleszczuk S, Sliwinska E, Zimny J Doubled haploids in production of male sterility mainting triticale (*Triticosecale* Wittmack) lines // Acta Physiol Plant. - 2005 –Vol. 27. – P.245–250 DOI: 10.1007/s11738-005-0029-z
- 21 Slusarkiewicz-Jarzina A, Ponitka, A. Efficient production of spontaneous and induced doubled haploid triticale plants derived from anther culture // Cereal Res Commun. – 2003. -Vol. 31 (3/4). - P.289–296.

- 22 Arzani A, Darvey N. The effect of colchicine on triticale anther-derived plants: microspore pre-treatment and haploid-plant treatment using a hydroponic system // Euphytica. – 2001. – Vol. 122. – P.235–241. DOI.org/10.1023/A:1012966506030

Р.С. Ержебаева

«Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан

Тритикаленің оқшауланған микроспоралар дақылдарының технологиясы (× *Triticosecale* Wittmack)

Аңдатпа: Тритикале (× *Triticosecale* Wittm.) бидайдың (*Triticum*) және қара бидайдың (*Secale*) синтетикалық буданы болып табылады және екі ата-аналық түрлердің де бағалы қасиеттерін біріктіреді: жоғары азықтық құндылығы және өсіруге қойылатын төмен талаптар. Қазақстанда осы жемшөптік дақылдың дамуын және селекциясын жеделдету үшін андрогендік технология сияқты биотехнологиялық әдісті пайдалану өзекті болып табылады. Микроспордан алынған дигаплоид өсімдіктер гомозиготалы линияларды алудың ең жылдам тәсілін қамтамасыз етеді. Оқшауланған микроспоралар дақылдарын тозаңдық дақылдаумен салыстырғанда көп еңбекті қажет ететін технология және жұмыстың әрбір кезеңінде барлық факторлар мен жағдайларды оңтайландыруды талап етеді. Отандық селекциялық бағдарламаларға оқшауланған микроспоралар дақылдарының технологиясын енгізу үшін қолда бар хаттамаларды қолданып, селекциондық материал тритикаледе тікелей сыни нүктелерді өңдеу қажет. Бұл зерттеудің мақсаты отандық селекцияның тритикале сорттары мен линияларының оқшауланған микроспора дақылдарының гаплоидтық технологиясының барлық кезеңдерін оңтайландыру және дигаплоидтік линияларды алу болып табылады. Оқшауланған микроспоралар дақылдарының технологиясы тритикаленің 6 үлгісінде (Т-434-2, Т-968, Т-45, Зернокормовое 5, ЯТХ-18-11, ЯТХ-327-11) сынақтан өткізілді. Хаттаманың сыни нүктелері толықтырылды. Эмбриогенез индукциясы үшін қоректік орта (mW14) таңдап алынды, оны пайдалану кезінде 233 андрогендік құрылым және 12,2 дана жасыл өсімдіктерден 100 тозаңға дейін алынды. Кездейсоқ екі еселену процесі 23,1% - ды құрады. Құрамдастырылған әдісті қолдану (кездейсоқ екі еселену, колхициндеу) дигаплоидтік линиялардың өндірісін 50,6% - ға дейін арттыруға мүмкіндік берді. Бұл пайыздық көрсеткіш селекционерлердің бір гибриді комбинациядан немесе линиядан дигаплоидтік линиялардың жеткілікті санын алуға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: тритикале, оқшауланған микроспоралар дақылдары, андрогендік құрылымдар, регенерация, плоидтілік, дигаплоидтік өсімдік

R.S. Yerzhebayeva

LLP "Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant growing", Almaty, Kazakhstan

Isolated microspore culture technology of triticale (× *Triticosecale* Wittmack)

Triticale (× *Triticosecale* Wittm.) is a synthetic hybrid of wheat (*Triticum*) and rye (*Secale*), it combines valuable traits of both parental species: high feeding value with low growth requirements. To develop and accelerate the breeding of this feed crop in Kazakhstan, the use of such a biotechnological method as androgenic technology. Plants - doubled haploids, obtained from microspores provide the fastest way to obtain homozygous lines. The isolated microspores culture is a more labor-intensive technology compared to the anther culture and requires the optimization of all factors and conditions at each stage of the procedure. For the introduction of IMC technology in domestic breeding programs, it is necessary to use already available protocols and working out critical points directly on the breeding material of triticale. The purpose of this study is to optimize all stages of the modern method of haploid technology of culture of isolated microspores on the varieties and lines of triticale of domestic breeding and obtaining dihaploid lines. Isolated microspores culture technology was tested on 6 samples of triticale (T-434-2, T-968, T-45, Zernokormovoye 5, YATH-18-11, YATH-327-11). The critical points of the protocol have been worked out. Selected nutrient medium for the induction of embryogenesis (mW14) using which received up to 233 androgenic structures and 12.2 pcs. green plants on 100 anthers. The process of spontaneous doubling was 23.1%. The combined use (spontaneous doubling, colchicine treatments) allowed increasing the production of doubled haploids lines to 50.6%. This percentage yield allows breeders to provide a sufficient number of doubled haploids lines from a single hybrid combination or line.

Keywords: triticale, isolated microspores culture, androgenic structures, regeneration, ploidy, doubled haploids plant.

References

- Slusarkiewicz-Jarzina A., Pudelska H., Woźna J., Pniewski T. Improved production of doubled haploids of winter and spring triticale hybrids via combination of colchicine treatments on anthers and regenerated plants, J Appl Genetics, 58, 287 (2017). DOI.10.1007/s13353-016-0387-9.
- Pauk J., Puolimatka M., Lukács T., Monoston T. *In vitro* androgenesis of triticale in isolated microspore culture // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61, 221 (2000). DOI.10.1023/A:1006416116366.
- Eudes, F. Amundsen, E. Isolated microspore culture of Canadian 6· triticale cultivars, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82, 233-244 (2005). DOI 10.1007/s11240-005-0867-9.
- Gonzalez M., Hernandez I., Jouve N. Analysis of anther culture response in hexaploid triticale, Plant Breed, 116, 302-304 (1997).
- Zur I., Dubas E., Golemic E., Szechynska-Hebda M., Janowiak F., Wedzony M. Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale (× *Triticosecale* Wittmack), Plant Cell Tissue Organ Cult, 94, 319-328 (2008). DOI: 10.1007/s11240-008-9360-6
- Eudes F., Chug A. An overview of triticale doubled haploids. In: Touraev A, Forster BP, Jain SM (eds) Advances in haploid production in higher plants, Springer, Heidelberg, 87-96 (2009). DOI 10.1007/978-1-4020-8854-4-6.

- 7 Ponitka A, Slusarkiewicz Jarzina A (2007) The effect of liquid and solid medium on production of winter triticale (x Triticosecale Wittm.) anther-derived embryos and plants, Cereal Research Communications, 35, 15-22 (2007). DOI: 10.1556/CRC.35.2007.1.3
- 8 Lantos C., Jancso M., Pauk J. Microspore culture of small grain cereals, Acta Physiologiae Plantarum, 27, 631-639 (2005). DOI 10.1007/s11738-005-0067-6.
- 9 Lantos C., Bo L., Boda K., Pauk, J. Comparative analysis of in vitro anther- and isolated microspore culture in hexaploid Triticale (X Triticosecale Wittmack) for androgenic parameters, Euphytica, 197, 27-37 (2014). DOI 10.1007/s10681-013-1031-y
- 10 Oleszczuk S., Sowa S., Zimny J. Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale (x Triticosecale Wittmack) cv. Bogo, Plant Cell Reports, 22, 885-893 (2004). DOI 10.1007/s00299-004-0796-9.
- 11 Yezhebayeva R. S., Abekova A. M., Ainebekova B. A., Urazaliyev K. R., Bazylova T. A., Daniyarova A. K., and G. Kh. Bersimbayeva Influence of Different Concentrations of Ascorbic and Gibberellic Acids and pH of Medium on Embryogenesis and Regeneration in Anther Culture of Spring Triticale, Cytology and Genetics, 51(6), 448-454 (2017). DOI: 10.3103/S0095452717060032.
- 12 Jia X., Zhuang J., Hu S., Ye C., Nie D. Establishment and application of the medium of anther culture of intergeneric hybridsof Triticum aestivumx Triticum-Agropyron, Sci. Agri. Sinica, 27, 83-87 (1994).
- 13 Lantos C., P?ricsi S., Zofajova A., Weyen J., Pauk J. Isolated microspore culture of wheat (Triticum aestivum L.) with Hungarian cultivars, Acta Biologica Szegediensis, 50 (1-2), 31-35 (2006).
- 14 Chu C. C., Hill R. D., Brule-Babel A. L. 1990. High frequencyof pollen embryoid formation and plant regeneration in Triticum aestivum L. on monosaccharide containing media, Plant Sci, 66, 255-262 (1990).
- 15 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assay with Tobacco cultures, Physiol Plantarum, 15, 473-475 (1962).
- 16 Lantos C., Pauk J. Anther Culture as an Effective Tool in Winter Wheat (Triticum aestivum L.) Breeding, Russian Journal of Genetics, 52 (8), 794-801 (2016). DOI 10.1134/S102279541608007X.
- 17 Li H., Devaux P. Isolated microspore culture overperforms an ther culture for green plant regeneration in barley (Hordeum vulgare L.), Acta physiologiae plantarum, 27(4B), 611-619 (2005). DOI: 10.1007/s11738-005-0065-8.
- 18 Ferri, A. M. R., Irmen, K. I., Beattie, A. D. Rosnagel, B. G. Isolated microspore culture of oat (Avena sativa L.) for the production of doubled haploids: effect of pre-culture and post-culture conditions, Plant Cell Tiss Organ Cult, 116, 89-96 (2014). DOI 10.1007/s11240-013-0385.
- 19 Tuveesson S, von Post R, Ljungberg A Triticale anther culture. In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, SzarejkoI (eds) Doubled haploid production in crop plants: manual book. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 117-122 (2003). DOI 10.1007/978-94-017-1293-4.
- 20 Warzecha R, Sowa S, Salak-Warzecha K, Oleszczuk S, Sliwinska E, Zimny J Doubled haploids in production of male sterility mainting triticale (Triticosecale Wittmack) lines, Acta Physiol Plant, 27, 245-250 (2005). DOI: 10.1007/s11738-005-0029-z
- 21 S.lusarkiewicz-Jarzina A, Ponitka, A. Efficient production of spontaneous and induced doubled haploid triticale plants derived from anther culture, Cereal Res Commun, 31 (3/4), 289-296 (2003).
- 22 Arzani A, Darvey N.LThe effect of colchicine on triticale anther-derived plants: microspore pre-treatment and haploid- plant treatment using a hydroponic system, Euphytica, 122, 235-241 (2001). DOI.org/10.1023/A:1012966506030

Сведения об авторах:

Ержебаева Р.С. - канд.биол.наук, руководитель группы биотехнологии ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, п. Алмалыбак, Карасайский р-н, Алматинская обл., Казахстан.

Yezhebayeva R.S.-PhD, Team Leader of Plant Biotechnology of LLP «Kazakh research institute of agriculture and plant growing», Almalybak v., Karasay district.,Almaty region, Kazakhstan.

С. А. Бахбаева¹, Ш. М. Жумадина², Н. П. Бгатова³¹ *1С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан*² *С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан*³ *Клиникалық және эксперименттік лимфологияның ғылыми-зерттеу институты - Федералды мемлекеттік бюджеттік ғылыми мекеменің филиалы «Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімінің цитология және генетика институтының федералдық зерттеу орталығы», Новосібір, Ресей**(E-mail: ¹ saule0577@mail.ru, ² ms.zhumadina@mail.ru, ³ n_bgatova@ngs.ru)***Ісіктің қашықтан өсуі жағдайындағы бауырдың лимфалық дренаж жолдарының құрылымы**

Андатпа: Бауыр детоксикация мен метаболизмнің орталық органы болып табылады және ең жоғары дәрежеде қатерлі өсу өнімдерінің уытты әсеріне ұшырайды. Сондықтан органның лимфа дренажының тиімділігі барлық ағзаның гомеостазын қолдауда маңызды рөл атқарады. Ісік өсуінің өршуіне байланысты детоксикация мүшелеріне – бауыр және лимфа түйіндеріне уытты жүктемелігі артады. Ісікті эндотоксикоз жағдайында бауырдың лимфа дренажының және бауыр лимфа түйіндерінің бұзылуларын сипаттайтын құрылымдық өзгерістер дамиды. Бауырда Диссе және Малл кеңістігінің өсуі, паренхима жасушаларының ісінуі және некрозы байқалады. Бауыр лимфа түйінінде лимфа синусының көлемі артады, строманың ісінуі және лимфалық жасушалардың құрамы төмендейді [1].

Мақаланың мақсаты СВА желілі тышқандардың сан бұлшықет ұлпасына егілген жануарлардың эксперименталды гепатокарцинома-29 дамыған ісіктердің бауыр лимфалық дренажының құрылымдық өзгерістерін анықтау болып табылады. СВА желілі тышқандардың сан бұлшықет ұлпасына егілген жануарлардың эксперименталды гепатокарцинома-29 дамыған ісіктердің бауыр лимфалық дренажының түрлі буындағы құрылымдарын жарық, электрондық микроскопия және иммуногистохимия әдістері арқылы қарастырдық.

Ісіктің қашықтан өсу жағдайында, бауырда құрылымдық өзгерістер дамиды: гепатоциттердің көлемдік және сандық тығыздығының төмендеуі, синусоидты кеңістіктердің көлемдік тығыздығының өсуі, бауыр прелимфатиктерінің мөлшерлерінің артуы - Диссе кеңістіктері, синусоидты эндотелиалды жасушалардың ісінуі, портал трактілердің лимфа тамырларының саңылауларының өсуі.

Алыстағы ісік өсу жағдайында бауырдың лимфа дренажының түрлі буындарында байқалатын құрылымдық өзгерістері қанда улы метаболиттердің болуына байланысты лимфа түзілу процестерінің артқанын көрсетеді.

Түйін сөздер: гепатокарцинома-29, бауыр, лимфалық дренаж, Диссе кеңістігі, Молла кеңістігі.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-34-41>

Жұмыс АҚ «Халықаралық бағдарламалар орталығы» гранты 2016 жылдың 26 желтоқсанының №4141 келісім-шарты бойынша және РФА СБ КЭЛҒЗИ ЦяҒИ филиалының бюджеттік қаржыландыруымен № 0324-2019-045-С-02 орындалды.

Өзектілігі: Адамның ең агрессивті ісіктерінің бірі гепатокарцинома болып табылады және диагностика мен емдеудегі қол жеткен жетістіктеріне қарамастан, әлемдегі өлім-жітім деңгейі бойынша бесінші және жүргізіліп жатқан полихимиотерапияға төзімділіктің болуына негізделген үшінші орында тұр [1].

Бауыр әртүрлі орналасқан ісік өсуі кезінде қашықтағы метастаздардың ең көп таралған орны болып табылады [2]. Ісік жасушаларының миграция жолдарының бірі – лимфа жүйесі. Лимфа дренажының қалыпты мүшенің құрылымдық-функционалдық қалыпты сипаттамасы ғана емес, сонымен қатар, ісік жасушалары инвазиясының мүмкіндігі болып табылады.

Бауырдың лимфа жүйесінің бастапқы буындары бір жағынан гепатоциттердің микротүтікшелерімен шектелген Диссе кеңістігі болып табылатыны белгілі [3].

Бауырдағы лимфа синусоидты эндотелиалды жасушалардың фенестрлері арқылы пашыраңқы кеңістікке сүзілетін плазма компоненттерінен, содан кейін Моллдың интерстициалды кеңістігіне және лимфа капиллярлары мен порталды тракттің тамырларында пайда болады деп болжанады [3].

Зерттеу мақсаты: СВА желілі тышқандардың сан бұлшықеттеріне гепатокарцинома жасушаларының трансплантациясы нәтижесінде ісік процесінің дамуы кезінде бауырдағы және оның аймақтық лимфа түйініндегі құрылымдық өзгерістерді бағалау.

Зерттеу әдістемесі: Жастары 3 айлық 18 - 20 г дейінгі салмақты СВА желілі еркек-тышқандарға тәжірибе жасалды. Жануарлар суда және тағамға еркін қол жеткізе алатын стандартты диетада ұстады. Жануарлармен жұмыс «Эксперименталды жануарларды қолдану арқылы жұмыс жүргізу ережелеріне» сәйкес жүргізілді.

Тәжірибеде жануарлардың 2 тобы пайдаланылды. 1-топ ісік егілмеген тышқандардан; 2-топ ісік процесі дамыған жануарлар. Ісік процесін тудыру үшін гепатокарцинома-29 (Г-29) жасушалары қолданылды.

Гепатокарцинома-29 РҒА СБ Цитология және генетика институтының қызметкерлері [4]. тарапынан алынып тексерілген, және біздің зерттеуімізге лайықталған. Г-29 жасушалары СВА желілі тышқандарына 10 күн өткеннен кейін асқазан сұйықтығы жиналып, 10 еселік тұзды көлемде тоқтатылып, интактты жануарлардың оң санының бұлшықеттеріне 0,1 мл енгізілген. Зерттеу үшін материалды іріктеу тәжірибенің 3, 7, 13 және 30 күндерінен кейін жүргізілді. Жануарларға эфирлік анестезия тәсілімен кранио-цервикальды дислокация жасалды.

Бауыр үлгілері бейтарап формалиннің 10 % ерітіндісінде тіркелді, стандартты гистологиялық әдіс бойынша өңделді және парафинге құйылды. Парафинді кесінділер гематоксилинмен және эозинмен және антиденелерді пайдаланумен боялған. Иммуногистохимиялық (ИГХ) реакцияның барлық кезеңдері (депарафинизация, демаскировка, бастапқы антиденелері бар инкубация және т.б.) антиденелерді өндірушінің хаттамасына сәйкес жүргізілді. Lyve-1 (DCSImmunoLine) және Podoplanin (MONOSAN) моноклоналды антиденелер қолданылған.

Электронды-микроскопиялық зерттеу үшін бауыр үлгілері Хенкс ортасында дайындалған параформальдегидтің 4 % ерітіндісінде белгіленген, фосфатты буферде (рН=7,4) 1 % OsO_4 ерітіндісінде (осмий тетроксиді) (Sigma, АҚШ) 1 сағат ішінде толықтырып, этил спиртінде өсу концентрациясын дегидратады және эпонда (Serva, Германия) бекітіліп жасалды.

Қалыңдығы 1 мкм жартылай жіңішке кесінділер Leica EM UC7 (Германия/Швейцария) ультрамикротомасында алынды, толудинді көк түсте боялды, "LEICADME" (Германия) жарық микроскоп астында зерттелді, "Avision" компьютерлік бағдарламасының көмегімен суретке түсірдік. Микрофотография ImageJ компьютерлік бағдарламасының көмегімен морфометрияланды. Паренхиманың көлемдік тығыздығын және бауыр стромасын, гепатоциттер мен олардың ядроларының сандық тығыздығын, екі ядролы гепатоциттерді 140 нүктеден тұратын жабық тест жүйесін пайдалана отырып қарастырдық.

Қалыңдықтағы 70-100 нм ультра жұқа кесінділер уранилацетаттың сулы ерітіндісімен және қорғасынның цитратымен контрасталды және JEM 1010 (Japan) электронды микроскопында зерттелді. ImageJ компьютерлік бағдарламасының көмегімен Диссе кеңістігінің өлшемдері анықталды. Деректерді статистикалық өңдеу Statistica 6.0 бағдарламасын қолдану арқылы жүргізілді. Орташа мәндерді және стандартты ауытқуды есептедік, айырмашылықтардың шынайылығы Манна-Уитни U-өлшемі бойынша есептелген және $p < 0,05$ мәндерінде қабылданған.

Зерттеу нәтижелері: Ю.И. Бородин лимфа аймағының тұжырымдамасын тасымалдық және уытсыздандыру компонентінің морфоқызметтік бірлігі ретінде тұжырымдады. Ол мүшенің аймақтық лимфа аппараты (дене бөлігінің) және оның лимфа жинақтауыш бассейнін қамтиды. Лимфа аймағында лимфа дренажының 3 буыны бөлінеді: перицеллюляр кеңістігінен лимфа арнасының тамырларына жаппай тасымалдаудағы интерстициальді емес тамырлы жолдары, лимфа тамырлары (капиллярлар, посткапиллярлар, тамырлар) және аймақтық лимфа түйіндері. Бауырдың тамырсыз микроциркуляциясының арнасы өте қиын

және кем дегенде 2 каскадтан тұрады: Диссе кеңістігі және Малла перипорталдық кеңістігінен [5].

Эксперименталды жануарлар санының бұлшықет ұлпасында Г-29 ісіктің өсу динамикасында бауыр құрылымын зерттеу кезінде гепатоциттердің көлемдік тығыздығының төмендеу үрдісі байқалды. Эксперименттің 30-тәулігіне қарай ісік өсуі бар жануарлар гепатоциттерінің көлемдік тығыздығының шамасы бақылау тобының жануарларына қарағанда 22 %-ға ($p < 0,05$) аз болды.

Бұл ретте зерттеудің осы мерзіміне 30 %-ға ($p < 0,05$), гепатоциттердің сандық тығыздығының мәні және 88 %-ға ($p < 0,05$) төмендеді, синустық кеңістіктердің көлемдік тығыздығының шамасы артты (кесте 1).

Кесте - 1 Қашықтықтан өскен ісік жағдайындағы бауырдың құрылымдық ұйымдастырылуы.

Атаулары	Бақылау	3 тәулік	7 тәулік	13 тәулік	30 тәулік
Митохондриялар	37,52±1,17	29,92±1,01**	34±1,24*	34,78±0,58**	25,17±0,87
Липидтік қоспалар	8±0,71	6,21±0,65	6,11±0,31*	0,78±0,11*	2,37±0,40**
Екінші реттік лизасома	3,06±0,11	3,88±0,64*	1,61±0,10*	2,44±0,11*	1,68±0,14**
Бірінші реттік лизасома	3,00±0,11	2,67±0,47*	1,72±0,05**	3,15±0,20**	2,73±0,15***
Гликогендер	14,21±0,59	4,71±1,02	26,72±1,19	13,5±0,51	17,75±0,91
Аутофогасома	0±0	0,48±0,39*	1,38±0,19	0,84±0,10***	4,61±0,20***

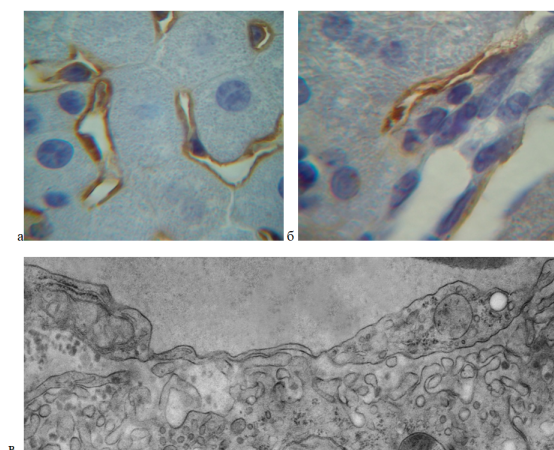
3 тәулік, 7 тәулік, 13 тәулік, 30 тәулік - тәжірибелік жануарлардың сан аймағындағы гепатокарциноманың дамуы; * - бақылаудағы айырмашылықтардың мәні $p < 0,05$.

Podoplanin лимфа маркеріне иммуногистохимиялық бояу, онда осы әдебиет негізінде бауырдың синусоидты эндотелиалды жасушалары боялады [4], ісіктің өсу процесінде бауыр синусоидтарының кеңеюін айқын көрсетті, эксперименттің 30-шы тәулігінде айқын көрінді (сурет – 1а).

Портал жолында Podoplanin+ -лимфа капиллярлар орташа кеңейтілген жолақтары көрінді (сурет – 1б). Бауыр прелимфатиктерінің мөлшерлерінің өсуі - Диссе кеңістіктері және синусоидты эндотелиалды жасушалардың ісінуі байқалды (сурет – 1в). Қашықтан ісік өсу жағдайында гепатоциттердің лимфа дренажының бастапқы буындарының байқалатын құрылымдық өзгерістері бауырдағы лимфа түзілу процестерінің, мүмкін, қанда ісіктің дамуымен байланысты улы метаболиттердің болуына байланысты өскенін көрсетті.

Гепатоциттердің лимфа дренажының бастапқы буындарын морфометриялық талдау кезінде ісіктің өсу динамикасында Диссе кеңістігінің нақты өзгеруі анықталды, гепатоциттердің некрозының жекелеген бөліктері белгіленді.

Көктамырлар мен синусты моноциттер болды, Диссе мен Малл кеңістігінің өлшемдерінің өсуі байқалды. Эксперименттің 3 тәулігінен кейін Диссе кеңістігінің 13 %-ға ($P < 0,0001$) ұлғайғанын байқадық, ал 7 тәуліктен кейін бұл параметрдің шамасы бақылаудағы тиісті мәннен ерекшеленбеді, бауырдағы ісіктің дамуы да гепатоциттердің некрозының жеке бөліктері сақталды. 13 тәулікке Диссе кеңістігінің мөлшері 21 %-ға өсті ($P < 0,0001$). Эксперименттің 30-шы күнінде осы параметрдің шамасы бастапқы мәнге оралды (2 сурет).

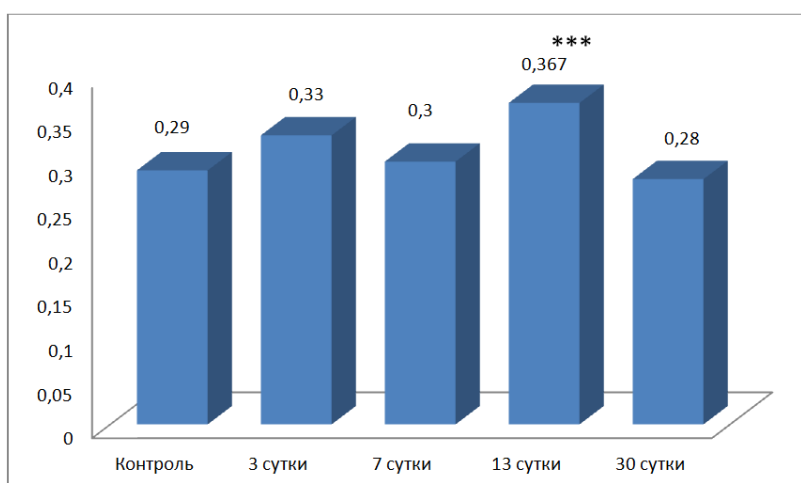


СУРЕТ 1 – Эксперименталды жануар санындағы гепатокарциноманың даму жағдайында бауырдың лимфа дренажының жолдарын құрылымдық ұйымдастырылуы:

а – тәжірибенің 30 тәулік эксперимент арқылы бауыр синустарының кеңейтілген саңылаулары. Podoplanin лимфа тамырларының эндотелийінің маркеріне иммуногистохимиялық бояу. 10x100 ұлғайту;

б – тәжірибенің 3 тәуліктен кейін портал жол аймағындағы лимфа капиллярлары. Podoplanin лимфа тамырларының эндотелийінің маркеріне иммуногистохимиялық бояу. 10x100 ұлғайту;

в – тәжірибенің тәжірибенің 13 тәулігінен кейін эндотелиалды синустық жасушаның цитоплазмасының кеңістігі мен ісінуі. x20000 ұлғайтумен.



*** $P < 0,0001$ бақылау тобына қатысты.

СУРЕТ 2 – Қашықтықтан ісіктің өсуі жағдайында жануарлардың бауырындағы Диссе кеңістігінің көлемі.

Қалыпты жағдайда Диссе кеңістігінің мөлшері 0,2-ден 1 мкм-ге дейін болатыны белгілі. Диссе кеңістігінде синусоидтардан келетін зат алмасу процессі гепатоциттер мен қан плазмасында жүреді. Гепатоцит жасушалаының мембранасы Диссе кеңістігімен байланыста бола отырып, микроталшықтар түзіледі, сол түзілген микроталшықтар жасуша бетінің аймағын 6 есеге арттырады. Диссе кеңістігінде Ито жасушалары орналасқан, олар фиброгенез процессінің ең маңызды қатысушысы болып табылады.

Лимфалық дренаж процесінде жасуша сұйықтықтығында жұқа қабырғалы синусоидты капиллярлар арқылы лимфа пайда болады. Капиллярлардың өткізгіштігінің негізінде зат алмасу жүзеге асырылды да, қанға ұлпа сұйықтықтарды, ақуыздарды, майларды жеткізеді (Мичурина және т. б.) [6].

Гепатокарциноманың дамуы жағдайында ағзада улы заттар пайда болады, олар қан ағысымен бауырға енеді, бұл жағдай ісіктердің өсуі нәтижесінде пайда болады. Сонымен қатар, бауыр детоксикация және метаболизмнің орталық органы болғандықтан,

қатерлі ісіктердің улы өнімдерінің әсерінен зақымдануға ұшырайды. Бұл жағдайларда гепатоциттердің қалыпты қызметі үшін өте маңызды тиімді бауыр лимфа дренажы болып табылады.

Қашықтағы ісіктің өсу жағдайында бауырдың лимфа дренажының өзгеруіне байланысты деструктивті өзгерістер байқалды [7]. Лизосомалардың көлемді тығыздығы артты, липидті қосылыстардың көлемдік тығыздығы төмендеді: тиісінше 13 және 30-шы тәулікке 90 және 70 %-ға ($p < 0,05$). Гликогеннің көлемдік тығыздығы 67 % ($p < 0,05$) ісіктің дамуының 3-тәулігіне азайды. Эксперименттің 3-ші тәулігінде митохондриялардың көлемді тығыздығы 22 % - ға ($p < 0,05$) төмендеді, ал 30-шы тәулікте ол бақылаудан 68 % - ды ($p < 0,05$) құрады. Эксперименттің 30-шы тәулігіне эндоплазмалық ретикулум цистернасының көлемді тығыздығы, тіркелген және бос полисомалық рибосомалардың сандық тығыздығы нақты төмендеді (2 кесте).

Лимфа жүйесі ұлпалық гомеостазды ұлпа сұйықтығының ағуын реттеу және оны көктамыр қанына қайтару арқылы қолдайды. Ол тағамдық майларды сіңіруде және тасымалдауда маңызды рөл атқарады. Бұдан басқа, лимфа жүйесінің тамырлары антигендердің және антиген-перифериядан лимфа түйіндеріне жасушаларды білдіретін негізгі өткізгіштер ретінде қызмет етеді және иммундық қадағалау мен жүре пайда болған иммунитет үшін шешуші мәнге ие [8, 9].

Біздің зерттеуде ісік өсу үдерісінде гепатоциттердің лимфа дренажының өзгеру динамикасы атап өтілді. Зерттеудің үшінші тәулік ішінде бауыр лимфа дренажының бастапқы буындарының мөлшерлерінің едәуір өсуі – Диссе кеңістіктері эксперименттік жануарлардың сан бұлшықет ұлпасының белсенді дамып келе жатқан ісік өсуімен байланысты болады [3].

Екінші жағынан Диссе кеңістігінің көлемінің едәуір жоғарылауы ісік процесінің барынша дамуына байланысты болды [10]. Диссе кеңістігінің көлемінің эксперимент 30-шы тәулігіне төмендеуі ісік процесінің одан әрі дамуына байланысты ұлғайған уытты жүктеме жағдайында бауырдың дренаждық жүйесінің сарқылуына байланысты болды.

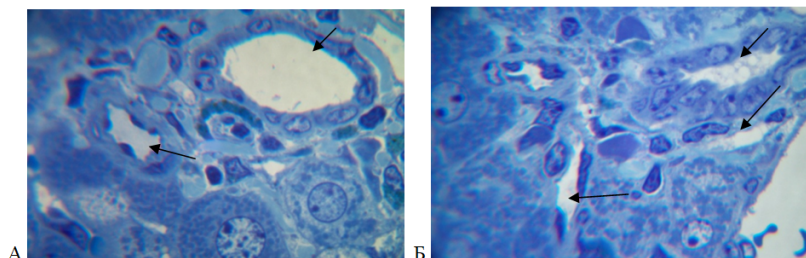
Кесте - 2 Қашықтан ісіктердің өсуі жағдайында гепатоциттерді морфометриялық зерттеу бойынша нәтижелері ($M \pm m$)

Параметрлері	Бақылау	Тәжірибе тобы			
		3-ші тәулік	7-ші тәулік	13-ші тәулік	30-шы тәулік
Митохондриялар, Vv	37.52±1.17	29.22±1.01	34.22±1.24	34.78±0.58	25.17±0.87
Түйіршікті эндоплазмалық тор, Vv	33.63±2.45	38.74±1.30	31.2±1.32	30.15±1.80	20.18±0.77*
Бекітілген рибосомалар, N _A	85.75±3.63	73.23±2.46	78.16±3.56	77.40±3.62	29.36±1.34*
Полисомалды бос рибосомалар, N _A	40.12±0.99	22.24±0.64*	13.22±1.51*	10.46±0.83*	11.54±0.36*
Бірінші реттік лизосомалар, Vv	2.00±0.11	2.67±0.47	1.72±0.05*	3.15±0.20	2.73±0.15
Екінші реттік лизосомалар, Vv	1.06±0.11	3.88±0.64	1.61±0.10*	1.78±0.11	2.37±0.14*
Липидтік қоспалар, Vv	8.00±0.71	6.21±0.65	6.11±0.31	1.78±0.11*	2.37±0.40*
Гликогендер, Vv	14.21±0.59	4.71±1.02*	16.72±1.19	13.5±0.51	17.75±0.91*

Ескерту. Vv — құрылымдардың көлемдік тығыздығы (цитоплазма көлемінің % - ы), N_A — құрылымның сандық тығыздығы (тестілеу аймағындағы сан). * $p < 0,05$ бақылаумен салыстырғанда.

Бауырдағы Лимфа синусты эндотелиалды жасушалардың фенестрлері арқылы Диссе кеңістігіне сүзілетін плазма компоненттерінен, содан кейін Моллдың интерстициалды кеңістігіне және лимфа капиллярлары мен портал жолдарыныңдағы тамырларында пайда

болады [4]. Бауырдағы лимфа плазма компоненттерінен пайда болады, синусты эндотелиалды жасушалардың фенестрлері арқылы Диссе кеңістігіне сүзіледі, содан кейін Моллдың интерстициалды кеңістігіне және лимфа капиллярлары мен порталды жол тамырларына. Біздің зерттеуде 30 тәуліктен кейін эксперимент капиллярлардың лимфа бездері және ағзадан лимфатикалық ағу үдерістерінің артқанын куәландыратын, алыстағы ісік өсу жағдайында бауырдағы портал жолдары тамырларының айтарлықтай кеңеюін байқадық (3 сурет).



СУРЕТ 3 – Эксперименттің 30 тәулігінен кейін тышқан бауырында порталдық трактілерді құрылымдық ұйымдастыру. Толуидинді көк түсті бояу. Ұлғайту x900.

А – лимфа тамырларының тар саңылаулары қалыпты жағдайда; Б – гепатокарцинома-29 дамуы кезінде лимфа тамырларының кеңейтілген саңылаулары (бағыттар).

Осылайша, ісіктің қашықтан өсу жағдайында, бауырда құрылымдық өзгерістер дамиды: гепатоциттердің көлемдік және сандық тығыздығының төмендеуі, гепатоциттердің ультрақұрылымдығының бұзылуы, синусоидты кеңістіктердің көлемдік тығыздығының өсуі, бауыр прелимфатиктерінің мөлшерлерінің артуы - Диссе кеңістіктері, синусоидты эндотелиалды жасушалардың ісінуі, порталдық трактілердің лимфа тамырларының саңылауларының өсуі.

Қашықтағы ісіктің өсу жағдайында бауырдың лимфа дренажының әртүрлі буындарының байқалатын құрылымдық өзгерістері қанында уытты метаболиттердің болуына байланысты бауырдағы лимфа түзілу процестерінің өскенін, гепатоциттердің некрозымен, бауыр паренхимасына нейтрофилдер мен макрофагтардың инфильтрациясымен және ісіктің дамуы кезінде ісік жасушаларының кең метастаздануымен байланысты құрылымдық қайта құрулар орын алды. Эксперименттің 30-шы тәулігінде сан бұлшықет ұлпасындағы лимфатикалық аймақтағы бауырда ісік процесінің дамуы кезінде көрсетілген.

Әдебиеттер тізімі

- 1 Макарова В. В., Гаврилова Ю. С., Бахбаева С. А., Бгатова Н. П. Лимфатический регион печени при моделировании экспериментальной гепатокарциномы // Материалы III Международной научно-практической конференции "Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты". - Кузбасс, - 2017. - С. 257-260
- 2 Germano D., Daniele B. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives // World J. Gastroenterol, - 2014. Vol. 20(12). - P. 3087-3099.
- 3 Lupinacci RM, Paye F, Coelho FF, Kruger JA, Herman P. Lymphatic drainage of the liver and its implications in the management of colorectal cancer liver metastases // Updates Surg. - 2014 - Vol. 66(4). - P. 239-245. doi : 10.1007/s13304-014-0265-0
- 4 Bgatova N. P., Makarova O. P, Pozhidayeva A. A., Borodin Y. I., Rachkovskaya L. N., Konenkov V. I. Effects of Lithium Nano-Scaled Particles on Local and Systemic Structural and Functional Organism Transformations Under Tumour Growth. Tumour Growth. Achievements in the Life Sciences. - Article (PDFAvailable) 2015 March, Vol. 50, Reads DOI: 10.1016/j.als.2015.01.003
- 5 Каледин В. И., Жукова Н. А., Николин В. П. и др. Гепатокарцинома-9 - метастазирующая перевиваемая опухоль мышей, вызывающая кахексию // Бюллетень экспериментальной биологии. - 2009. - Т. 148. - №12. - С.664-669.
- 6 Бородин Ю. И., Мичурина С. В., Ищенко И. Ю., Белкин А. Д. Лимфатический регион и гематолимфатический барьер печени в норме // В кн. : Лимфология. Под ред. В.И. Коненкова, Ю.И. Бородина, М.С. Любарского. Новосибирск: Манускрипт. 2012. - С. 215-220.
- 7 Мичурина С. В., Бородин Ю. И., Колесников С. И., Ищенко И. Ю., Коненков В. И. Печень и ее лимфатический регион при воздействиях бенз[а]пирена в эксперименте // ВЕСТНИК РАМН. - 2015. № 2. - С. 242-248

- 8 Tanaka M., Iwakiri Y. The Hepatic Lymphatic Vascular System: Structure, Function, Markers, and Lymphangiogenesis. *CellMol Gastroenterol Hepatol.* - 2016. Vol. 2(6). -P. 733-749. doi: 10.1016/j.jcmgh.2016.09.002.
- 9 Бгатов Н. П., Бородин Ю. И., Макарова В. В., Пожидаева А. А., Рачковская Л. Н., Коненков В. И. Влияние наноразмерных частиц карбоната лития на интактную мышечную ткань и опухолевый рост // Бюл. Экспер. биол. - 2014. - Т. 157. № 1. - С. 102-108.

С. А. Вахбаева¹, Ш. М. Жумадина², Н. П. Бгатова³

¹ Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан

² Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Нур-Султан, Казахстан

³ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Структура путей лимфатического дренажа в печени в условиях отдаленного опухолевого роста

Аннотация: Печень является центральным органом детоксикации и метаболизма и в наибольшей степени подвержена токсическому воздействию продуктов злокачественного роста. Поэтому эффективность лимфатического дренажа органа играет важную роль в поддержании гомеостаза всего организма. Целью исследования было выявление структурных изменений лимфатического дренажа печени при развитии экспериментальной гепатокарциномы-29 в мышечной ткани бедра мышей линии СВА. Методами световой, электронной микроскопии и иммуногистохимии изучали структуру различных звеньев лимфатического дренажа печени в условиях развития гепатокарциномы - 29 в мышечной ткани бедра животных линии СВА. Выявлено, что в условиях отдаленного опухолевого роста, в печени развиваются структурные изменения: снижение объемной и численной плотности гепатоцитов, возрастание объемной плотности синусоидальных пространств, увеличение размеров прелимфатиков печени - пространств Диссе, набухание синусоидальных эндотелиальных клеток, возрастание просветов лимфатических сосудов портальных трактов. Наблюдаемые структурные изменения различных звеньев лимфатического дренажа печени в условиях удаленного опухолевого роста свидетельствуют о возрастании процессов лимфообразования, связанных с наличием в крови токсичных метаболитов.

Ключевые слова: гепатокарцинома-29, печень, лимфатический дренаж, пространства Диссе, пространства Молла.

S.A. Bakhbayeva¹, Sh.M. Zhumadina², N.P. Bgatova³

¹ S. Toraihyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan

² S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Astana, Kazakhstan

³ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology - branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Novosibirsk, Russia

Structure of the pathways of lymphatic drainage in the liver in conditions of remote tumor growth

Abstract: The liver is the central organ of detoxification and metabolism and is most susceptible to the toxic effects of products of malignant growth. Therefore, the effectiveness of lymphatic drainage of the organ plays an important role in maintaining homeostasis of the whole organism. The aim of the study was to identify structural changes in the lymphatic drainage of the liver during the development of experimental hepatocarcinoma-29 in the muscle tissue of the thigh of CBA mice. Using light, electron microscopy and immunohistochemistry, we studied the structure of various parts of the lymphatic drainage of the liver under conditions of the development of hepatocarcinoma -29 in the muscular tissue of the thigh of CBA animals. It was revealed that under conditions of distant tumor growth, structural changes develop in the liver: a decrease in the volume and numerical density of hepatocytes, an increase in the volume density of sinusoidal spaces, an increase in the size of liver prelymfatiks — Disa spaces, an increase in the sinusoidal endothelial cells, an increase in the lumens of the lymph vessels of the portal tracts. The observed structural changes in various parts of the lymphatic drainage of the liver under conditions of remote tumor growth indicate an increase in lymphatic processes associated with the presence of toxic metabolites in the blood.

Keywords: hepatocarcinoma-29, liver, lymphatic drainage, Disa spaces, Mall spaces

References

- 1 Makarova V. V., Gavrilova YU. S., Bahbaeva S. A., Bgatova N. P. Limfaticeskij region pecheni pri modelirovanii eksperimental'noj gepatokarcinomy. [Lymphatic region of the liver in the simulation of experimental hepatocarcinoma], *Materialy III Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii "Fundamental'nye nauchnye issledovaniya : teoreticheskie i prakticheskie aspekty"*. Kuzbass, 2017 - 257-260 (2017) [in Russian].
- 2 Germano D., Daniele B. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives, *World J. Gastroenterol.* 20(12), 3087-3099 (2014).
- 3 Lupinacci R.M., Paye F., Coelho F.F, Kruger J.A., Herman P. Lymphatic drainage of the liver and its implications in the management of colorectal cancer liver metastases, *Updates Surg.* 66(4), 239-245, (2014) doi : 10.1007/s13304-014-0265-0
- 4 Bgatova N. P., Makarova O. P, Pozhidayeva A. A., Borodin Y. I., Rachkovskaya L. N., Konenkov V. I. Effects of Lithium Nano-Scaled Particles on Local and Systemic Structural and Functional Organism Transformations Under Tumour Growth. *Tumour Growth. Achievements in the Life Sciences.* - Article (PDFAvailable), (2015) March, (50). Reads DOI: 10.1016/j.als.2015.01.003

- 5 Kaledin V. I., Zhukova N. A., Nikolin V. P. i dr. Gepatokarcenoma-9 - metastaziruyushchaya perevivaemaya opuhol' myshej, vyzyvayushchaya kaheksiya [Hepatocarcinoma-29 - Metastatic transplantable tumor of mice causing cachexia], Byulleten' eksperimental'noj biologii, 148(12), 664-669 (2009) [in Russian].
- 6 Borodin YU. I., Michurina S. V., Ishchenko I. YU., Belkin A. D. Limfaticeskij region i gematolimfaticeskij bar'er pecheni v norme. [Lymphatic region and hepatic hemato lymphatic barrier are normal], V kn. : Limfologiya. Pod red. V.I. Konenkova, YU.I. Borodina, M.S. Lyubarskogo. Novosibirsk: Manuskript. 215-220 (2012) [in Russian].
- 7 Michurina S. V., Borodin YU. I., Kolesnikov S. I., Ishchenko I. YU., Konenkov V. I. Pechen' i ee limfaticeskij region pri vozdejstviyah benz[a]pirena v eksperimente [Liver and its lymphatic region under the effects of benz [a] pyrene in the experiment], VESTNIK RAMN, (2). 242-248. (2015) [in Russian].
- 8 Tanaka M., Iwakiri Y. The Hepatic Lymphatic Vascular System: Structure, Function, Markers, and Lymphangiogenesis, CellMolGastroenterol Hepatol. 2(6), 733-749. (2016) doi: 10.1016/j.jcmgh.2016.09.002
- 9 Bgatova N. P., Borodin YU. I., Makarova V. V., Pozhidaeva A. A., Rachkovskaya L. N., Konenkov V. I. (2014) Vliyanie nanorazmernyh chastic karbonata litiya na intaktnuyu myshechnuyu tkan' i opuholevyj rost. [The effect of nano-sized particles of lithium carbonate on intact muscle tissue and tumor growth] Byul. Eksper. biol., 157(1), 102-108, (2014) [in Russian].

Авторлар жөнiндегi мәліметтер:

Бахбаева С. А. – С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университетінің биология және экология кафедрасының 6D060700-Биология мамандығының докторанты. 140013, Ломов көш., 62, Павлодар, Қазақстан.

Бгатова Н. П. – б.ғ.д., профессор, клиникалық және эксперименттік лимфологияның ғылыми-зерттеу институты – Федералды мемлекеттік бюджеттік ғылыми мекеменің филиалы – Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімінің цитология және генетика институтының федералдық зерттеу орталығының, ультрақұрылымдық зерттеулер зертханасының меңгерушісі. Академика Тимакова көш., 2, Новосібір, Ресей.

Жумадина Ш. М. – «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» АҚ-ның «Биологиялық ғылымдар» кафедрасының профессор, б.ғ.д., Женис алаңы 62, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Bakhbayeva S.A. – PhD student of Biology and Ecology Department in 6D060700- Biology, S. Toraighyrov Pavlodar State University, 140013, 64 Lomov street, Pavlodar, Kazakhstan.

Bgatova N.P. – Doctor of Biological Sciences, professor, head of Ultrastructural Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology Laboratory – branch of FSBSI Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 2 Academician Timakov street, Novosibirsk, Russia.

Zhumadina Sh.M. – Doctor of Biological Sciences, professor of Biological Sciences Department, JSC S. Seifullin Kazakh Agrotechnical university, 62 Zhenis Avenue, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Редакцияға 25.09.2019 қабылданды

А.К. Калиева

Қ.Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік мемлекеттік университеті, Ақтөбе, Қазақстан
(E-mail: aigul_03@mail.ru)

Penicillium cyclosporum 2-11 штамындағы пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіндегі фосфордың ролі

Аннотация: Пектинлиаза ферменттерінің түзілуіне культуралардың оларды түзу дәрежесін зерттеуде қоректік ортаның құрамы шешуші әсерін тигізеді және олардың ішінде көміртегінің қоректік көзі елеулі орын алады. *P.cyclosporum* 2-11 штамында ПЛ ферменттерінің белсенді синтезі үшін қоректік ортаның құрамына Чапек ортасында көрсетілгендей емес (0,023 г фосфор), фосфордың көбірек мөлшерін қосу қажет. Қоректік ортаға азот көзі ретінде үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзын пайдалану кезінде, онымен бірге фосфордың қосымша мөлшері (фосфор бойынша 0,164 г) қосылды. Бұл басқалармен салыстырғанда осы азот көзінің артықшылығын айқындады. Сондықтан азоттың қоректену көзі ретінде басқа азот көздерін пайдаланғанда иммобилизацияланған культурада ПЛ ферменттерінің биосинтезін 10-11 есе арттыратын *P.cyclosporum* 2-11 штамындағы пектинлиаза ферменттерінің ең жоғары биосинтезі үшін 100 мл ортаға фосфордың 0,368 г мөлшерін қосу қажет екендігін есепке алған жөн.

Түйін сөздер: пектинлиаза ферменттері, культура, штамм, қоректік орта, биосинтез, иммобилизация.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-42-47>

Kіріспе. Пектинлиаза ферменттерінің түзілуіне азоттың қоректік көзі де айрықша әсерін тигізеді. Пектинлиаза ферменттерінің көп синтезделуін қамтамасыз ететін ең тиімдісі – азоттың бейорганикалық қосындысы және азоттың физиологиялық қышқыл көздері. Бұл ферменттердің түзілуі үшін нитраттың тұздары, сол сияқты азоттың органикалық түрлері өте сирек қажет етіледі. Сонымен, *Bacillus subtilis*-ті өсіру үшін ПГЛ синтезіне азот көзі ретінде бірқатар азоттың органикалық қосылыстары алынды. Ферменттің ең көп мөлшері $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ қосылған ортада анықталды [1]. Ал басқа штамда ПГЛ продуценті *Bacillus* sp. K.R.G. ферментті түзу үдерісі үшін және культураның өсуіне органикалық азот көзінің кешені ретінде пептон мен ашытқылар экстрактісін қажет етеді және қоректік ортадағы бастапқы қышқылдың мәні рН 9,7-ге тең болуы қажет [2].

Clostridium pectinofermentans 15-тегі пектаттрансселиминазаның синтезін реттеу үшін қоректік ортада азот мөлшері 0,2%-дан төмен болмауы қажет, әрі мұнда органикалық және бейорганикалық азот қосылыстарын араластырып қосқан пайдалы. Қоректік ортаға бейорганикалық азот көзімен қатар әр түрлі амин қышқылдарын – аргинин, гистидин, пролин, аланин, валин, лейцин және аспарагин қышқылдарын қосу трансселиминаза синтезін жоғарылатты [3]. Азоттың әртүрлі бейорганикалық көздерін пайдалану *Clostridium pectinofermentans* 15-тің культуралдық сұйықтығында әр түрлі ферменттер кешенінің түзілуін қамтамасыз етті, мұнда бір ферменттің синтезі күшейсе, енді біреуінде синтез нашарлады.

Пектинтрансселиминазаны, сондай-ақ полигалактуроназа мен пектинметилэстеразаның синтезін күшейтетін эмбебап азот көзіне $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ жатады. Ол бір жағынан қоректік ортадағы қосымша фосфор көзі де бола алды. Чапек қоректік ортасына қосылатын фосфордың 0,023 г мөлшері пектин ыдыратушы ферменттерін түзуге жеткіліксіз. Ал 100 мл ортада фосфордың 0,368 г мөлшері *A.awamori* үшін ең қолайлы болып саналды. Оның үстіне бұл тұздың культура клеткасына өту қабілеті қоршаған ортаға ферменттің көп бөлінуіне мүмкіндік жасайды [4, 5].

Әдебиеттердегі мәліметтерді ескере келе, зерттелген микроорганизмдердің пектинлиаза ферменттері кешенінің биосинтезі тек әр түрлі сипатта болып қана қоймайтынын, сонымен қатар әр қилы реттеуіш механизм көмегімен бақыланатынын болжауға болады. Қорыта айтқанда, әртүрлі микроорганизмдер культураларындағы пектинлиаза ферменттерінің

бағытталған биосинтезі ферменттер продуценттерінің қасиетіне тығыз байланысты. Продуценттердің қоректену физиологиясының ерекшелігін біле отырып, қоректену көздерінің сандық және сапалық құрамын және фермент биосинтезінің шамасын реттеуге болады. Ал фермент түзілуінің дерепрессиясына жағдай туғызу зерттелетін ферменттердің түзілу белсенділігін арттыруға мүмкіндік береді.

Мақсаты:

P.cyclosporum 2-11 штамындағы пектинлиаза ферменттерінің биосинтезі үшін фосфордың мөлшерін анықтау.

Зерттеу әдістері

Зерттеу нысаны ретінде сұрыптау арқылы алынған пектинлиаза ферменттерінің түзушісі *P.cyclosporum* 2-11 микромицеті алынды. Себінді материалы ретінде ортаның көлеміне қарай 2 % есебінде 1 мл-де 170000-190000-ға дейін конидийлері бар спора суспензиясы қолданылды. Пектинлиаза ферменттерінің белсенділігін бірқатар модификацияланған Витакердің тәсілі, Н. А. Родионовамен бірлесіп жазылған Оствальдтің вискозиметрінде анықтадық [6].

Белсенділік бірлігі ретінде салыстырмалы тұтқырлығының кері шамасына 38-40 °C температурада 1 минут ішіндегі өлшем бірлігіне өсуін қамтамасыз ететін фермент мөлшері алынды.

Біздің жұмысымыздың мақсаты *P.cyclosporum* 2-11 жоғары белсенді нұсқасының қоректену физиологиясын және азоттың басқа да аммонийлы көздерімен салыстырғанда үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзының артықшылықтарының себебін зерттеу болып табылады.

Нәтижелер мен талқылау.

Иммобилизация және ұзақ өсіру үдерісінде иммобилизацияланған *P.cyclosporum* культурасының өзгергіштігін анықтау қатты төсеніштен торшаны алу жолымен жүргізіліп, бөлініп алынған зерттелетін микромицет нұсқаларының құрылымдық-морфологиялық және биохимиялық өзгерген белгілерін айқындауға мүмкіндік берді. Алынған *P.cyclosporum* 2-11 жоғары белсенді нұсқасының қоректену физиологиясын зерттеу барысында бастапқы *P.cyclosporum* культурасындағыдай жоғары пектинлиазалық белсенділік *P.cyclosporum* 2-11 культурасында да фруктозада анықталды (кесте 1).

Кесте 1 - Әртүрлі көміртек көздерімен қоректік ортада *P.cyclosporum* 2-11 штамында пектинлиаза ферменттерінің түзілуі

Көміртегі көзі	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ, б/мл		1г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
Сахароза (бақылау)	8,0	0,95	15,0 ± 0,16	16,5 ± 0,10	15,8	17,4
Фруктоза	8,0	1,03	35,8 ± 0,06	45,5 ± 0,26	34,8	44,2
Глюкоза	8,0	0,93	14,0 ± 0,06	15,0 ± 0,17	15,0	16,1
Мальтоза	8,0	0,66	15,0 ± 0,16	15,5 ± 0,47	22,7	23,5
Лактоза	8,0	0,67	15,3 ± 0,09	15,7 ± 0,11	22,8	23,4
Маннит	8,0	0,61	14,0 ± 0,06	14,5 ± 0,18	23,0	23,8
Сорбит	8,0	0,81	15,5 ± 0,47	16,0 ± 0,06	19,1	19,7
Жоғары этерленген D-галактуронан	8,0	0,95	14,0 ± 0,15	14,5 ± 0,09	14,7	15,3
Аз этерленген D-галактуронан	8,0	0,73	24,4 ± 0,21	27,0 ± 0,26	33,4	37,0

Пектинлиаза ферменттерінің конститутивті және индукциялы табиғатын білу үшін зерттелетін культураның қоректік ортасына ең қолайлы көміртегі көзі – фруктозамен

бірге спецификалық субстраттарды – жоғары этерленген D-галактуронан мен аз этерленген D-галактуронанды, пектин қышқылын қостық (кесте 2). Осы тәжірибелер бастапқы *R.cyclosporum* культурасы сияқты *R.cyclosporum* 2-11 культурасында да пектинлиаза ферменттері конститутивті табиғатқа ие болатындығын көрсетті. Спецификалық субстраттар ең қолайлы көміртегі көзі ретінде зерттелетін ферменттердің синтезін қоздырмайды. Егер фруктозада пектинлиазалы белсенділік ПМГЛ үшін 35,8 б/мл және ПГЛ үшін 45,5 б/мл болса, оларға спецификалық субстраттарды қосқанда культуралдық сұйықтықта ферментативті белсенділігі көтерілмеді. Бұл көрсеткіштер спецификалық субстраттардың қатысуы кезінде ферменттер түзілуінің қозуы жүрмейтіндігін дәлелдейді.

Кесте 2 - *R.cyclosporum* 2-11 штамында пектинлиаза ферменттерінің биосинтезделу деңгейіне қолайлы көміртегі көзіне спецификалық субстраттарды қосудың әсері

Тәжірибе нұсқалары	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ, б/мл		1г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
Фруктоза (бақылау)	8,0	1,7	35,8 ± 0,06	45,5 ± 0,26	21,1	26,8
Фруктоза + жоғары этерленген D-галактуронан	8,0	1,7	35,6 ± 0,25	45,3 ± 0,12	20,9	26,7
Фруктоза + аз этерленген D-галактуронан	8,0	1,7	35,5 ± 0,21	45,5 ± 0,20	20,9	26,8
Фруктоза + пектин қышқылы	8,5	1,6	35,3 ± 0,20	45,3 ± 0,15	22,1	28,3

R.cyclosporum 2-11 штамына азотты қоректену көздері ретінде бейорганикалық және органикалық азот көздері сыналды. Культура пектинлиаза ферменттерін бейорганикалық және органикалық азот көздерінде де түзетіндігі белгілі болды. Бастапқы *R.cyclosporum* культурасында ең қолайлы азот көзі аммоний хлориді болса, ал *R.cyclosporum* 2-11 культурасында үш рет орын басқан фосфорлы аммоний тұзы ((NH₄)₃PO₄) болды (кесте 3).

Бастапқы культурда қолайлы көміртегі және азот көздерінде, яғни фруктоза мен аммоний хлоридінде пектинлиазалық белсенділік ПМГЛ үшін 12,9 б/мл-ге дейін және ПГЛ үшін 15,9 б/мл-ге дейін болса, ал сұрыпталып алынған *R.cyclosporum* 2-11 культурасында пектинлиаза ферменттерінің түзілу динамикасын зерттеу кезінде ферментативтік белсенділік ПМГЛ үшін 46,5 б/мл және ПГЛ үшін 68,2 б/мл болды.

Кесте 3 - Қоректік ортада бейорганикалық және органикалық азот көздерімен *R.cyclosporum* 2-11 штамында пектинлиаза ферменттерінің түзілуі

Азот көзі	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ б/мл		1г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
NaNO ₃ (бақылау)	8,0	1,03	15,0 ± 0,16	16,5 ± 0,10	14,6	16,0
(NH ₂)SO ₄	8,0	0,71	6,0 ± 0,16	6,5 ± 0,20	8,5	9,2
NH ₄ NO ₃	8,0	0,7	6,3 ± 0,10	7,5 ± 0,12	9,0	10,7
NH ₄ Cl	8,0	1,4	35,8 ± 0,06	45,5 ± 0,26	25,6	32,5
(NH ₄) ₃ PO ₄	8,0	1,7	46,5 ± 0,15	68,2 ± 0,12	27,4	40,2
NH ₄ H ₂ PO ₄	8,0	1,5	17,0 ± 0,06	18,0 ± 0,10	11,3	12,0
(NH ₄) ₂ HPO ₄	8,0	1,5	18,5 ± 0,13	19,2 ± 0,06	12,3	12,8
Казеин	9,0	1,6	15,5 ± 0,47	15,9 ± 0,11	9,7	9,9

R. cyslorium 2-11-де ПЛ ферменттері биосинтезінің үдерісінде үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзының Чапек ортасында басқа аммоний тұздарымен салыстырғанда артықшылығы айқындалуы кезінде қоректік ортаға онымен бірге фосфор мөлшері 0,164 г (100 мл ортаға) артық қосылатындығы анықталды. Пектинлиаза ферменттерінің биосинтезінде фосфор ролінің айқындалуы кезінде құрамына фосфор кірмейтін әртүрлі азот көздеріне 100 мл қоректік ортаға екі рет орын басқан фосфорлы калий тұзының (KH_2PO_4 мөлшері 0,023 г-нан 0,368 г-ға дейін (фосфор бойынша) көбейтіліп қосылды, яғни қоректік ортаға $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ пен KH_2PO_4 -ны қанша қоссақ, сонша фосфор қостық.

Әдетте, құрамында фосфоры жоқ бейорганикалық азот көздерін сынау кезінде Чапек ортасында көрсетілгендей қоректік ортаға KH_2PO_4 -пен бірге 0,023 г фосфор қостық. Пектинлиаза ферменттерінің биосинтезінде фосфор мөлшерінің 0,023 г-нан 0,184 г-ға дейін көтерілуі, тек аммоний тұздары көздерінде ғана емес, сонымен қатар натрий нитратында да 3 есеге дейін көтерілетіндігін көрсетті (кесте 4).

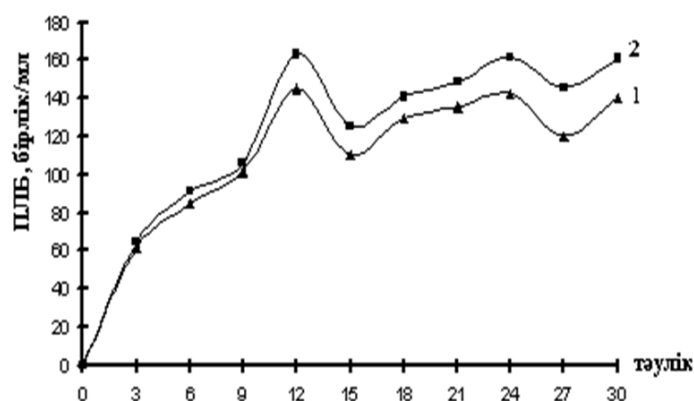
Кесте 4 – *R. cyslorium* 2-11 пектинлиаза ферменттерінің жиналуына бейорганикалық азот көздерінің құрамына кіретін фосфордың әсері

Азот көзі	100 мл қоректік ортадағы фосфор мөлшері								
	Р бойынша 0,023 г			Р бойынша 0,184 г			Р бойынша 0,368 г		
	pH	ПЛА б/мл		pH	ПЛА б/мл		pH	ПЛА б/мл	
		ПМГЛ	ПГЛ		ПМГЛ	ПГЛ		ПМГЛ	ПГЛ
$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ (бақылау)	8,0	-	-	8,5	40,6± 0,16	45,5± 0,20	8,7	70,5± 0,10	91,0± 0,30
NaNO_3	8,0	9,5 ± 0,16	11,9± 0,06	8,3	12,5± 0,10	15,5± 0,47	8,5	19,2± 0,06	23,9± 0,10
NH_4Cl	8,5	12,9± 0,27	15,9± 0,11	8,7	17,0± 0,06	18,0± 0,10	9,0	23,0± 0,06	30,0± 0,16
NH_4NO_3	8,0	10,0± 0,10	10,5± 0,12	8,3	-	-	8,5	27,1± 0,15	29,1± 0,13
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	8,0	7,0 ± 0,16	14,0± 0,06	8,5	7,5± 0,12	15,9± 0,11	8,7	60,5± 0,12	74,5 ± 0,1
$(\text{NH})_2\text{HPO}_4$	8,0	7,5 ± 0,16	12,4± 0,10	8,5	-	12,5± 0,10	8,7	65,0± 0,17	77,5± 0,15

Әсіресе, ПЛ ферменттерінің күрт өсуі фосфор мөлшерін 100 мл ортаға 0,368 г-ға артық қосу кезінде ПЛ ферменттерінің белсенділігі 70,5-91,0 б/мл-ге дейін артатындығы анықталды (сурет 1). Қоректік ортада фосфордың қолайлы мөлшерінде (0,368 г/100 мл) *R. cyslorium* 2-11 штамын өсіру кезінде ПЛ ферменттерінің биосинтезі иммобилизацияланған культурада ПМГЛ бойынша 144,8 б/мл және ПГЛ бойынша 163,3 б/мл-ге көтеріліп, яғни құрамында 0,023 г фосфор бар қолайлы ортада өсірілген бастапқы культурадан 10-11 есе, ал еркін культурадан 5,5-5,7 есе артық белсенді екендігін көрсетті.

Сонымен, азоттың басқа да аммонийлы көздерімен салыстырғанда үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзының артықшылықтарының себебін зерттеу кезінде ПЛ ферменттерінің ең жоғарғы синтезі үшін Чапек ортасына қарағанда культуралдық сұйықтыққа фосфордың көбірек мөлшері қажет екендігі анықталды.

Қорытынды. Алынған нұсқаның қоректену физиологиясын зерттеу барысында бастапқы культурадан 3,6-4,3 есе белсендірек, яғни ПЛ ферменттерінің белсенділігін ПМГЛ бойынша 46,5 б/мл-ге және ПГЛ бойынша 68,2 б/мл-ге дейін көтеретін *R. cyslorium* 2-11 штамы үшін қолайлы азот көзі ретінде үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзы екені анықталды. *R. cyslorium* 2-11-ді ұзақ өсіру кезінде дәлелденгендей, алынған штамм үшін қоректік ортада фосфор мөлшерін көтеру кезінде ПЛ ферменттерінің көп мөлшері түзілуі тән. Иммобилизацияланған культурада ПЛ ферменттерінің түзілуі ПМГЛ үшін 144,8 б/мл-ге және ПГЛ үшін 163,3 б/мл-ге дейін жетті. Сонымен, Чапек ортасында көрсетілгендей емес (0,023



СУРЕТ 1 – Фосфор мөлшерінің (0,368 г) ең жоғары деңгейінде қоректік ортада иммобилизацияланған *Р.суслоріум* 2-11 штамының ПЛ ферменттерін түзу динамикасы 1 – ПМГЛ б/мл; 2 – ПГЛ б/мл

г фосфор), *Р.суслоріум* 2-11 штамында ПЛ ферменттерінің белсенді синтезі үшін қоректік ортаға фосфордың көбірек мөлшерін қосу қажет. Қоректік ортаға азот көзі ретінде үш рет орын басқан фосфор қышқылды аммоний тұзын пайдалану кезінде, онымен бірге фосфордың қосымша мөлшері (фосфор бойынша 0,164 г) қосылды. Бұл басқалармен салыстырғанда осы азот көзінің артықшылығын айқындады. Сондықтан азоттың қоректену көзі ретінде басқа азот көздерін пайдаланғанда иммобилизацияланған культурада ПЛ ферменттерінің биосинтезін 10-11 есе арттыратын *Р.суслоріум* 2-11 штамындағы пектинлиаза ферменттерінің ең жоғары биосинтезі үшін 100 мл ортаға фосфордың 0,368 г мөлшерін қосу қажет екендігін есепке алған жөн.

Әдебиеттер тізімі

- 1 Kurowski W.M., Dunleavy J.A. Pectinase production by bacteria associated with improved preservative permeability in sitka soruce: Synthesis and secretion of polygalacturonate lyase by *Cytophaga johnsonii* //J Appl. Bacteriol. - 1976-Vol.41. -№1. -P.119-122.
- 2 Kelly C.T., Fogarty W.W. Production and properties of polygalacturonate lyase by an alkalophilic microorganism *Bacillus* sp PK 9 //Can J. Microbiol. -1978. -Vol.24. -№ 10. -P. 1164-1172.
- 3 Бравова Г.Б. Биосинтез пектолитических ферментов анаэробными бактериями рода *Clostridium*: автореф. канд. дис. М., 1973. 38с.
- 4 Астапович Н.И., Кондратьева Л.В., Рябая Н.Е., Грель М.В. Образование пектолитических ферментов микромицетом *Aspergillus foetidus* в зависимости от источника углерода и азота //Изв. Ан СССР. Сер. биол.наук. 1984. 1. . 64-66.
- 5 Блиева Р.К. Образование пектинрасщепляющих ферментов и -амилазы свободными и иммобилизованными микромицетами рода *Aspergillus*: дисс..докт. биол. наук. - Ташкент, 1991
- 6 Albersheim P., Killias U. Studies relating to the purification and properties of pectin-transeliminase //Arch. Biochem. Biophys. -1962. -Vol.971.-№ 1. -P.107-115.

А.К. Калиева

Ақтөбинский региональный государственный университет им. К. Жубанова, Ақтөбе, Казахстан

Роль фосфора в биосинтезе пектинлиазных ферментов *Penicillium cyclopium* 2-11

Аннотация: Существенное влияние на образование пектинлиазных ферментов оказывает источник азотного питания. Наиболее эффективными, обеспечивающими высокий синтез пектинлиазных ферментов, являются неорганические азотные соединения и в первую очередь физиологически кислые источники азота. Нами установлено, что для активного синтеза пектинлиазных ферментов *Р. суслоріум* 2-11 необходимо добавлять большее количество фосфора в среду, чем это рекомендуется средой Чапека. При использовании трехзамещенного фосфорнокислого аммония в качестве источника азота в среду вместе с ним вносится дополнительное количество фосфора (0,164 г по Р). Это и определило преимущество этого источника азота перед другими. Поэтому при использовании в качестве источника азотного питания других источников азота необходимо учитывать, что для максимального биосинтеза пектинлиазных ферментов *Р. суслоріум* 2-11 необходимо добавлять фосфор в количестве 0,368 г /100 мл среды, который увеличивает биосинтез ПЛ ферментов у иммобилизованной культуры в 10-11 раз.

Ключевые слова: пектинлиазные ферменты, культура, штамм, питательная среда, биосинтез, иммобилизация.

A.K.Kalieva

Aktobe Regional State University. K. Zhubanova, Aktobe, Kazakhstan

The role of phosphorus in the biosynthesis of *Penicillium cyclopium* 2-11 pectinase enzymes

Abstract: A significant influence on the formation of pectinase enzymes has a source of nitrogen nutrition. The most effective, providing high synthesis of pectinase enzymes, are inorganic nitrogen compounds and primarily physiologically acidic nitrogen sources. We have found that for the active synthesis of *P. cyclopium* 2-11 pectinase enzymes, it is necessary to add more phosphorus to the medium than recommended by the anapek medium. When using trisubstituted ammonium phosphate as an nitrogen source, an additional amount of phosphorus is added to the medium along with it (0.164 g according to P). This determined the advantage of this nitrogen source over others. Therefore, when using other nitrogen sources as a source of nitrogen nutrition, it is necessary to take into account that in order to maximize the biosynthesis of *P. cyclopium* 2-11 pectinase enzymes, phosphorus should be added in an amount of 0.368 g / 100 ml of medium, which increases the biosynthesis of the PL enzymes in the immobilized culture in 10-11 time.

Keywords: pectinase enzymes, culture, strain, nutrient medium, biosynthesis, immobilization.

References

- 1 Kurowski W.M., Dunleavy J.A. Pectinase production by bacteria associated with improved preservative permeability in sitka soruce: Synthesis and secretion of polygalacturonate lyase by *Cytophaga johnsonii*, J Appl. Bacteriol.41, (1). 119-122. (1976).
- 2 Kelly C.T., Fogarty W.W. Production and properties of polygalacturonate lyase by an alkalophilic microorganism *Bacillus* sp PK 9, Can J. Microbiol, 24, (10).1164-1172 (1978).
- 3 Bravova G.B. Biosintez pektoliticheskikh fermentov anaerobnymi bakteriyami roda *Clostridium*: avtoref... kand.dis. [Biosynthesis of pectolytic enzymes by anaerobic bacteria of the genus *Clostridium*: author. cand. dis.] (1973, 38p.) [in Russian].
- 4 Astapovich N.I., Kondrat'eva L.V., Ryabaya N.E., Grel' M.V. Obrazovanie pektoliticheskikh fermentov mikromicetom *Aspergillus foetidus* v zavisimosti ot istochnika ugleroda i azota [Grel M.V. Formation of pectolytic enzymes by *Aspergillus foetidus* micromycete depending on carbon and nitrogen source] (1984, 64-66 p.) [in Russian].
- 5 Blieva R.K. Obrazovanie pektinrassheplyayushchih fermentov i ?-amilazy svobodnymi i immobilizovannymi mikromicetami roda *Aspergillus*: ...dokt.biol.Nauk: [Formation of pectin-disintegrating enzymes and ?-amylase by free and immobilized micromycetes of the genus *Aspergillus* - diss...doct. biol. Sciences] (1991) [in Tashkent].
- 6 Albersheim P., Killias U. Studies relating to the purification and properties of pectin-transeliminase //Arch. Biochem. Biophys, 971 (1), 107-115 (1962).

Сведения об авторах:

Калиева А.К. – биология ғылымдарының кандидаты, биология кафедрасының аға оқытушысы, Қ. Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік мемлекеттік университеті, Ақтөбе, Қазақстан

Kalieva A.K. - Candidate of Biological Sciences, Senior Lecturer of the Department of Biology, Aktobe Regional State University. K. Zhubanova, Aktobe, Kazakhstan

Редакцияға 03.06.2019 қабылданды

В.Ю. Кириллов, Т.Н. Стихарева, А.Н. Рахимжанов

Казахский научно-исследовательский институт лесного хозяйства и агролесомелиорации,
Щучинск, Казахстан

(E-mail: vitaliy.kirillov.82@mail.ru, kazniiles@mail.ru, alimgan.rakhimganov@mail.ru)

Некоторые виды раннецветущих травянистых растений, произрастающих на территории Северного Казахстана, их состав и использование

Аннотация: Северный Казахстан характеризуется резко континентальным климатом, что сказывается на небольшом количестве раннецветущих видов растений. В результате исследований в регионе выявлены некоторые раннецветущие виды травянистых растений в количестве 10 наименований, относящиеся к 7 семействам: Asteraceae (2 вида), Brassicaceae (1 вид), Primulaceae (1 вид), Ranunculaceae (3 вида), Rosaceae (1 вид), Valerianaceae (1 вид), Violaceae (1 вид). Они отмечены на опушках лесов, лесных полянах, в сильно разреженных участках леса. Определено, что *Pulsatilla patens* (L.) Mill. и *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. внесены в Красную книгу Казахстана, *Scorzonera austriaca* Willd., *Antennaria dioica* (L.) Gaertn., *Clausia aprica* (Stephan ex Willd.) Korn.-Trotzky, *Androsace septentrionalis* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz., *Valeriana tuberosa* L. занесены в Красные книги областей Российской Федерации, а некоторые и в Красные книги Украины, Беларуси, Молдовы. Отсутствует информация о химическом составе и использовании видов *C. aprica* и *P. humifusa*.

Ключевые слова: раннецветущие растения, Северный Казахстан, химический состав, использование растений, Красная книга.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-48-58>

Введение. Раннецветущими являются растения, цветущие весной в апреле-мае. Данные растения обычно имеют быстрый рост и развитие, однако имеются и такие, которые продолжают свое развитие и летом. Особенно быстрый рост и развитие свойственны к цветку. У одних наиболее ранних весенних растений цветок появляется раньше листьев, у других – цветок распускается или почти одновременно с листьями или же вскоре после распускания листьев. Цветки до появления листьев, а также сами листья, пока не сделаются способными к фотосинтезу, развиваются за счет органических веществ, синтезированных в прошлом году и отложенных в подземных органах – корневищах, клубнях, луковицах и корнях. Раннецветущие растения хорошо обеспечены влагой от еще недавно сошедшего снега и небольших осадков, выпадающих в апреле-мае, поэтому у них отсутствуют защитные приспособления для сохранения влаги. Однако они подвержены резким колебаниям температуры (яркие лучи солнца днем и заморозки ночью), в связи с чем у них имеются приспособления в виде закрытия цветков на ночь и днем при холодной погоде, а также поникания цветков вниз. Кроме того, раннецветущие растения не имеют конкурентов, благодаря чему почти весь жизненный цикл или часть его совершают на свободе.

Целью данного исследования было выявить видовой состав раннецветущих травянистых растений Северного Казахстана.

Практическая значимость исследования заключается в том, что полученная информация о раннецветущих видах Северного Казахстана может быть использована при изучении вопросов рационального природопользования, сохранении генофонда, подготовке специальных постановлений и решений по охране дикорастущих растений Северного Казахстана.

Материалы и методы. В период с апреля по май 2019 года были изучены раннецветущие травянистые растения, произрастающие на территории Государственного национального природного парка (ГНПП) «Бурабай» (52° 56' с. ш. и 70° 18' в. д.), расположенного в окрестностях города Щучинска Акмолинской области, относящейся к Северному Казахстану. Климат Северного Казахстана резко континентальный. Лето умеренно теплое, а зима продолжительная и холодная. Непосредственно в Щучинске в апреле 2019 года

средняя температура составляла $+10^{\circ}\text{C}$ (максимальная температура $+21^{\circ}\text{C}$, минимальная температура -10°C), в мае – средняя температура составляла $+20^{\circ}\text{C}$ (максимальная температура $+30^{\circ}\text{C}$, минимальная температура -5°C).

Сборы проводились в ходе маршрутных и маршрутно-рекогносцировочных исследований на опушках, лесных полянах или в сильно разреженных лесных насаждениях. Для наиболее полного выявления флористического состава раннецветущих растений, участки на территории посещали неоднократно. Была проведена фотосъемка растений, собраны гербарные образцы. Определение растений проведено кандидатом биологических наук Стихаревой Т.Н. по «Флоре Казахстана» [1-5] и «Флоре СССР» [6].

Результаты и их обсуждение. В результате исследований было выявлено 10 видов раннецветущих травянистых растений Северного Казахстана, принадлежащих к 7 семействам:

- семейство Asteraceae (= Compositae):

1. *Scorzonera austriaca* Willd (рисунок 1а) – многолетнее растение высотой 5-30 см. Корзинки широко-цилиндрические; стебли простые или ветвящиеся; цветоносные ветви более толстые. Прикорневые листья линейные, линейно-ланцетные до 1,0-1,5 см шириной. Цветет в мае-июле. Распространен в Европейской части Российской Федерации, Западной (Алтай) и Восточной Сибири, Средней Европе, Средиземноморье, Балканах, Малой Азии, Монголии [5]. Евразийский неморально-аридный. Растет на степях, каменисто-щебнистых склонах холмов и гор. Козелец австрийский является облигатным кальцефилом. В ГНПП «Бурабай» отмечен на каменистых склонах сопок [7]. Входит в Красные книги 4 областей Российской Федерации, Украины. Растение содержит сесквитерпеноиды, тритерпеноиды, стероиды, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды [8]. Корни *S. austriaca* в тибетской медицине применяют при гастроэнтеритах, как жаропонижающее, наружно в виде полоскания – при стоматитах; листья и цветки в монгольской медицине применяют при гепатохолецистите, холангите, желудочных коликах, при пониженной кислотности желудочного сока. Является кормовым для крупного и мелкого рогатого скота, верблюдов [9]. Широко распространен в северо-восточных и северо-западных регионах Китая, особенно в провинции Цилинь. Используется в традиционной фитотерапии Китая для лечения лихорадок, карбункулов и маститов. Флавоноиды из *S. austriaca* обладают гепатопротекторным действием и ингибирующим действием на вирус гепатита В [10].

2. *Antennaria dioica* (L.) Gaertn (рисунок 1б) – двудомное многолетнее травянистое растение высотой 3-30 см; головки 5-6 мм шириной; листочки обертки у женских и мужских корзинок белые или розовые до красноватых, у мужских корзинок от обратно-яйцевидных до продолговатых удлинённых, тупые; развитые листья прикорневой розетки сверху голые, снизу опушенные (молодые листья розетки могут быть опушенными с двух сторон), лопатчатые с вытянутой нижней частью, на верхушке тупые и с остроконечием; стеблевые листья нижние и средние острые, с остроконечием [6]. Цветет в мае-июле. Распространена в субарктических, средне-влажных и средне-континентальных климатических зонах Европы, Азии и Северной Америки. Произрастает на открытых каменистых, песчаных склонах, опушках лесов, речных террасах, сухих лугах, в тундрах, до верхнегорного пояса. В ГНПП «Бурабай» является обычным видом для сосняков [7], преимущественно для сухих условий произрастания. *A. dioica* содержит фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, антрохиноны, тритерпеноиды, каучук, стероиды, таннины, алкалоиды, витамины, сапонины, эфирное масло [9, 11]. В настоящее время используется только в народной медицине. Рекомендуются в качестве ранозаживляющего, кровоостанавливающего и желчегонного средства, особенно используется для лечения гемопоэза; кишечных, геморроидальных, маточных кровотечений; грыж; кровавой диареи и коклюша. Надземная часть растения также используется для лечения заболеваний горла, туберкулеза легких и гипертонии и как седативное средство. Наружно применяется для лечения детской экземы, абсцессов, туберкулеза кожи; порошок травы используется для лечения ран, ожогов и ушибов [12]. *A. dioica* занесена в Красную книгу Москвы и некоторых областей Российской Федерации.

- семейство Brassicaceae:

3. *Clausia aprica* (Stephan ex Willd.) Korn.-Trotzky (рисунок 16) - многолетнее растение высотой 3-35 см, стебель опушен короткими и жесткими железистыми волосками с примесью длинных, щетинистых, оттопыренных; чашелистики длиной 6-10 мм; лепестки длиной 11-22 мм, фиолетово-пурпуровые; стручки на длинных, длиной 5-15 мм, плодоножках. Цветет в мае-июле. Растет на степных лугах с песчаной почвой, на окраинах степных сосновых боров и горных степей, каменистых и щебнистых склонах холмов и сопок. Для ГНПП «Бурабай» является обычным видом, распространенным по каменистым склонам сопок [7]. Вид простирается от северной Украины, Среднего Дона, Волги, Камы, Южного Урала, Казахстана, Западной Сибири, Центральной Азии, Восточной Сибири до Якутии, Дальнего Востока России, Западного Китая и Монголии. [1, 13]. Включена в Красные книги 14 областей Российской Федерации. Химический состав не изучен. Известно, что содержит алкалоиды. Имеет декоративное значение.

- семейство Primulaceae:

4. *Androsace septentrionalis* L. (рисунок 12) – однолетнее растение высотой 3-35 см, опушено короткими простыми и ветвистыми волосками; листья в густой розетке, продолговатые или линейно-ланцетные, сидячие; венчик белый, в зеве желтоватый, немного длиннее чашечки. Цветет в апреле-июле. Растет в лесной и лесостепной зонах, на луговых и каменистых склонах, береговых обрывах, залежах, реже как сорное на полях. В ГНПП «Бурабай» отмечен на просеках, колеях грунтовых лесных дорог, на каменистых склонах [7]. Распространен в Арктике, Европейской части СНГ, Кавказе, Средней Азии, Западной и Восточной Сибири, Дальнем Востоке, Средней и Атлантической Европе, Малой Азии, Монголии, Западном Китае, Японии, Северной Америке [3]. *A. septentrionalis* в ходит в Красные книги некоторых областей Российской Федерации, Беларуси. *A. septentrionalis* содержит тритерпеноиды, кумарины, дубильные вещества, флавоноиды. Настои и отвары растения применяют при стенокардии, нарушениях функций щитовидной железы, истерии, эпилепсии, для лечения болезней горла, при гастралгии, гонорее и как средство, возбуждающее аппетит, диуретическое, болеутоляющее, гемостатическое и противосудорожное. Экспериментально доказано контрацептивное и abortивное действие настоев. 10%-ный настой ускоряет свертываемость крови; отмечено его седативное действие. Растение имеет декоративное значение [14].

- семейство Ranunculaceae:

5. *Pulsatilla patens* (L.) Mill. (*Pulsatilla patens* ssp. *patens*) (рисунок 10) - многолетнее травянистое растение, с черным многоглавым корневищем и розеткой прикорневых листьев, 6-15 см высотой, при плодах до 45 см высотой. Прикорневые листья полностью разворачиваются после цветения, имея удлиненный негустоволосистый черешок, пластинки пальчато-тройчаторассеченные. Цветки крупные, фиолетовые или синие, вначале широко колокольчатые, затем широко раскрытые. Плодики заостренные, волосистые. Размножается семенами. Цветет в марте-мае, плодоносит в мае-июне, иногда вторично цветет в августе-сентябре. *P. patens* распространен по всему степному Казахстану, вне Казахстана - Западная Европа, Западная Сибирь. *P. patens* произрастает в сухих степях и на склонах гор, суходольных лугах, в степных западинах, по опушкам лесов, в зарослях кустарников. В ГНПП «Бурабай» произрастает на остепненных склонах сопок, в сосняках на гранитных выходах [7]. Численность постоянно сокращается вследствие хозяйственной деятельности человека: распашка земель, сбор лекарственного сырья, сбор цветов на букеты [15]. *P. patens* содержит сапонины, γ -лактоны - анемонин. В корнях и корневищах обнаружены сапонины тритерпеновые - патенсозиды А, В, С и D. В надземной части обнаружены следы кумаринов; в цветках – антоцианы: гликозид дельфинидина. Настой травы применяется при общей слабости, лихорадке, внутренних кровотечениях, туберкулезе, параличе, ревматизме, эпилепсии, алкоголизме, венерических и женских заболеваниях, радикулите. Обладает антибиотическими и антибактериальными свойствами, оказывает abortивное действие. Отвар корней используется в виде примочек при порезах и опухолках. Надземные части в тибетской медицине применяются при пониженном питании, наружно - для лечения гнойных ран. Настой

листьев используется при нервных заболеваниях, сок – при ожогах. Растение является кормовым для мелкого рогатого скота [16].

6. *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. (*Pulsatilla patens* ssp. *flavescens* (Zucc.)) (рисунок 1е) – многолетнее травянистое растение высотой 20-35 см. Редкий вид для Казахстана [15]. Прикорневые листья черешчатые, перисто- или пальчато-рассеченные, стеблевые – обычно сидячие, при основании сросшиеся, более или менее сильно рассеченные. Цветки одиночные, довольно крупные, желтые или кремовые. Плод – многоорешек; плодики с длинными перисто-волосистыми столбиками. Цветет в апреле-мае. Произрастает в степных сообществах, в разреженных сухих сосняках, на лесных полянах и опушках в сухих условиях местопроизрастания, на холмах. Распространен по северной окраине Казахстана – от Западно-Казахстанской до Восточно-Казахстанской области. Наблюдается сокращение численности по причинам, отмеченным для предыдущего вида. Содержит особое остро наркотическое эфирное масло, до 0,5%, состоящее главным образом из гликозида ранункулина, расщепляющегося на глюкозу и протоанемонин (лактон γ -гидроксивинилакриловой кислоты) – летучее соединение с резким запахом, вызывающее раздражение кожи, при дальнейшем расщеплении дает анемонин, а затем – неактивную анемоновую кислоту. Опасность отравления протоанемонином, вызывающим острые воспаления желудка и кишок, а также параличи, приводящие к смертельному исходу, сохраняется только в свежем, зеленом растении. В надземной части растения обнаружены стероиды, следы алкалоидов, флавоноиды. Корни растения содержат сапонин. Прострел желтоватый является ядовитым растением, совершенно не поедаемым скотом. С лечебной целью используется трава (стебли, листья, цветки), листья, бутоны *P. flavescens*. Настой травы применяется при радикулите, параличах и укусах бешеными собаками. Свежие листья в измельченном виде местно применяются при чесотке, оказывают бактерицидное действие. Настой бутонов пьют при ревматизме [17-18].

7. *Ranunculus acris* L. (рисунок 1ж) – многолетнее растение высотой 30-70 см; корни шнуровидные, в верхней части не утолщенные; стебли обычно не одиночные; листья, кроме верхних, черешковые, листья нижние и прикорневые глубокопятираздельные, длинночерешковые, с наличием пластинок округлой формы, листья, располагающиеся в верхней части, являются трёхраздельными на надрезанно-зубчатые элементы, сидячие; сегменты прикорневых листьев не имеют клиновидного основания; цветки золотисто-желтые; плодики гладкие, длиной 2,5 мм, сжатые, окаймленные. Цветет с мая по август. Произрастает на заливных и суходольных лугах, болотистых местах, в березовых колках и как сорное на полях, залежах и пастбищах [1]. Для ГНПП «Бурабай» является сравнительно редким видом [7]. Распространен в Европе, Азии, встречается в Северной Америке. Содержит сапонины, алкалоиды, витамины, дубильные вещества, кумарины, флавоноиды, каротиноиды, γ -лактоны. *R. acris* обладает бактерицидным и фитонцидным действиями, убивает золотистый стафилококк и другие бактерии, уничтожает споры плесени. Водный отвар применяется в дерматологии. В народной медицине применяется наружно как сильное нарывное или местное раздражающее средство при подагре, ревматизме и кожных болезнях. Из растения готовят нарывной пластырь. Свежие листья применяют наружно – при артритах, лихорадке. В свежем виде ядовит [16].

– семейство Rosaceae:

8. *Potentilla humifusa* Willd. ex Schldt. (рисунок 1у) – многолетнее растение высотой 5-10 см; стебли приподнимающиеся, едва превышающие длину прикорневых листьев; прикорневые листья длинно черешковые, пятерные или семерные; стеблевые листья немногочисленные, коротко черешковые, пятерные или тройчатые; цветки в многоцветковых соцветиях; лепестки желтые. Цветет в мае-июле. Растет в степи, на степных лугах и песчаных или каменисто-щебнистых склонах сопок. Для ГНПП «Бурабай» отмечен на полянах, по лесным опушкам, каменистым склонам [7]. Распространен в Европейской части СНГ, Кавказе, Западной и Восточной Сибири, Казахстане [1]. Информация по составу и использованию отсутствует. Относится к виду-индикатору, безразлично относящемуся к выпасу.

– семейство Valerianaceae:

9. *Valeriana tuberosa* L. (рисунок 1ж) – многолетнее растение высотой 15-25(70) см; клубень с ясно выраженной шейкой, без боковых придаточных клубней; стебли одиночные, простые, голые; листья супротивные, прикорневые и нижние стеблевые цельные, черешковые, средние и верхние стеблевые листья сидячие; соцветие плотное, головчатое; венчик светло-розовый; цветки недружные, воронковидные. Цветет с апреля до середины мая, плодоносит в мае-июне. Произрастает в степях, на солонцеватых прибрежных лугах, в степных западинах и на солончаках в нижнем поясе гор и предгорьях. Для ГНПП «Бурабай» является сравнительно редким видом [7]. Распространена в Европейской части СНГ, Кавказе, Западной Сибири, Западном Средиземноморье, Балканах [4]. Гелиофит, ксерофит, факультативный галофит. *V. tuberosa* является ранневесенним эфемероидом. Вид занесен в Красные книги 11 областей и республик Российской Федерации, Республики Молдовы. Узкая экологическая амплитуда вида; сбор на лекарственное сырье; слабая конкурентоспособность по отношению к дерновинным растениям; пастбища скота, в том числе по склонам (вид скотом не поедается, но вытаптывается); раннее сенокошение; разрушение мест обитания, в том числе из-за распашки степных участков; степные пожары; мелиорация земель – основные лимитирующие факторы, угрожающие виду. *V. tuberosa* является единственным представителем рода, запасующим питательные вещества в клубне и возобновляющим рост за счет запасов клубня [19-20]. Листья и соцветия содержат фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, флавоноидные гликозиды, в том числе уникальные, которые не встречаются у других видов, в подземных органах содержится эфирное масло, валепотриаты [21]. Вид имеет высокое декоративное и лекарственное значение. В народной медицине настойка, отвар, настой корневища и корней применяются как общеукрепляющее, расслабляющее мышцы, обезболивающее, потогонное, диуретическое, противорвотное, антигельминтное, детоксикационное средство [22].

- семейство Violaceae:

10. *Viola canina* L. (рисунок 1л) – многолетнее растение высотой 7-15 см, в плодах 22 см; корневище очень короткое, все растение голое; стебли чаще многочисленные, при основании простертые, к верхушке приподнимающиеся, реже почти прямостоящие; листья оттянуто-яйцевидные, с коротким туповатым остроконечием; прилистники узкие, шиловидные, значительно короче половины длины пластинки листа; цветки синие, в зеве белые, без запаха, шпорец цилиндрический, тупой, беловатый или желтоватый; плод – коробочка, цветет в апреле-мае, плодоносит в мае-июне. Растет по песчаным берегам рек и на пастбищах, на полянах в лесах и среди кустарников, по склонам гор до среднегорного пояса. В ГНПП «Бурабай» встречается в березово-осиновых лесах [7], нами отмечен в свежих типах сосняков, в микропонижениях. Распространен в Европейской части Российской Федерации, Кавказе, Западной и Восточной Сибири, Средней и Атлантической Европе, в Азии с умеренным климатом до Японии [2]. *V. canina* содержит эфирное масло, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, кумарины, алкалоиды, полисахариды [14, 23]. Применяется как легкое слабительное, диуретическое, мягчительное и обезболивающее; при опухолях. Корни используются как рвотное и слабительное, а в странах Западной Европы как отхаркивающее. Водный настой и отвар надземной части применяется при болезнях горла, бронхитах и ларинготрахеитах. Листья заваривают как чай и пьют при болезнях сердца. Является медоносным растением [14].



а



б



в



г



Д



е



Ж



И



К



Л

Рисунок 1 – Представители раннецветущей травянистой флоры Северного Казахстана:
 а - Козелец австрийский (*Scorzonera austriaca* Willd.); б - Кошачья лапка двудомная (*Antennaria dioica* (L.) Gaertn.);
 в - Клаусия солнцепечная (*Clausia aprica* Trotzky); г - Проломник северный (*Androsace septentrionalis* L.);
 д - Прострел раскрытый (*Pulsatilla patens* (L.) Mill.); е - Прострел желтеющий (*Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz.);
 ж - Лютик едкий (*Ranunculus acris* L.); з - Лапчатка расprostёртая (*Potentilla humifusa* Willd. ex Schlttdl.);
 к - Валериана клубненосная (*Valeriana tuberosa* L.);
 л - Фиалка собачья (*Viola canina* L.).

Закключение. В результате исследований было выявлено 10 видов раннецветущих травянистых растений, произрастающих в Северном Казахстане. Необходимы дальнейшие исследования этой группы растений с целью расширения видового состава, изучения динамики их состояния, химического состава, практического использования и способов сохранения.

Список литературы

- 1 Павлов Н.В. Флора Казахстана. Т. 4. - Алма-Ата: АН КазССР. - 1961. - 548 с.
- 2 Павлов Н.В. Флора Казахстана. Т. 6. - Алма-Ата: АН КазССР. - 1963. - 464 с.
- 3 Павлов Н.В. Флора Казахстана. Т. 7. - Алма-Ата: АН КазССР. - 1964. - 498 с.
- 4 Павлов Н.В. Флора Казахстана. Т. 8. - Алма-Ата: Наука. - 1965. - 448 с.
- 5 Павлов Н.В. Флора Казахстана. Т. 9. - Алма-Ата: Наука. - 1966. - 640 с.
- 6 Флора СССР. Т. 25. - Москва, Ленинград: АН СССР. - 1959. - 630 с.
- 7 Хрусталева И.А., Артемова О.А., Куприянов А.Н., Султангазина Г.Ж. Конспект флоры государственного национального парка «Бурабай» (Кокчетавская возвышенность, Центральный Казахстан) // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. - 2013. - № 19. - С. 49-77.
- 8 Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды *Echinops-Youngia*. - Санкт-Петербург; Москва: Товарищество научных изданий КМК. - 2013. - 312 с.
- 9 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). - Санкт-Петербург: Наука. - 1993. - 352 с.
- 10 Xie Y., Guo Q.-S., Wang G.-S. Preparative separation and purification of the total flavonoids in *Scorzonera austriaca* with macroporous resins // Molecules. - 2016. - № 21. - P. 768. doi:10.3390/molecules21060768

- 11 Semeniv D.V., Belik G.V., Kutsenko T.A., Stoletov Yu.V., Ulanova V.A. The experience of *Antennaria dioica* application in folk medicine and prospects of this plant use for creation of new phytohemostatics // Ukrainian Biopharmaceutical Journal. - 2016. - № 6(47). - P. 37-41.
- 12 Marchyshyn S., Basaraba R., Berdey T. Investigation of phenolic compounds of *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. Herb // The Pharma Innovation Journal. - 2017. - № 6(8). - P. 9-11.
- 13 Franzke A., Hurka H., Janssen D., Neuffer B., Friesen N., Markov M., Mummenhoff K. Molecular signals for late Tertiary/early Quaternary range splits of an Eurasian steppe plant: *Clausia aprica* (Brassicaceae) // Molecular Ecology. - 2004. - № 13. - P. 2789-2795. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02272.x
- 14 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Рано-ниевые – Тимелеевые. - Ленинград: Наука. - 1985. - 336 с.
- 15 Красная книга Казахстана. Т. 2.: Растения. - Астана: ТОО «Арт Print XXI». - 2014. - 452 с.
- 16 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Магнолиевые – Лимониевые. - Ленинград: Наука. - 1984. - 460 с.
- 17 Павлов Н.В. Растительное сырье Казахстана. - Москва, Ленинград: АН СССР. - 1947. - 231 с.
- 18 Кириллов В.Ю., Стихарева Т.Н. О важности всестороннего исследования прострела желтоватого (*Pulsatilla flavescens*) в Казахстане // Вестник государственного университета имени Шакарима города Семей. - 2014. - № 3(67). - С. 126-129.
- 19 Дорджиева В.И., Волошина Т.В., Джапова Р.Р., Аюшева Е.Ч. Морфофизиологические особенности адаптации *Valeriana tuberosa* L. к произрастанию в условиях степной зоны Калмыкии // Проблемы региональной экологии и природопользования. Естественные науки. - 2013. - № 2(43). - С. 56-61.
- 20 Изверская Т.Д., Гендов В.С., Чокырлан Н.Г. Валериана клубненосная - *Valeriana tuberosa* L. (Valerianaceae) во флоре Республики Молдова // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe. - 2016. - Т. 9, № 3. - С. 127-131.
- 21 Горбунов Ю.Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств: Морфология, систематика, перспективы использования. - Москва: Наука. - 2002. - 207 с.
- 22 Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Карпиевые – Подорожниковые. - Ленинград: Наука. - 1990. - 328 с.
- 23 Бубенчиков Р.А. Фенольные соединения и полисахариды фиалки собачьей // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2004. - № 1. - С. 156-159.

В.Ю. Кириллов, Т.Н. Стихарева, А.Н. Рақымжанов

Қазақ орман шаруашылығы және агроорманмелиорация ғылыми-зерттеу институты, Щучинск, Қазақстан

Солтүстік Қазақстан аумағында өсетін ерте гүлдейтін шөптесін өсімдіктердің кейбір түрлері, олардың құрамы және қолданылуы

Аңдатпа: Солтүстік Қазақстан күрт құбылмалы ауа райымен мінезделенеді, бұл аздаған ерте гүлдейтін өсімдік түрлеріне әсер етеді. Зерттеулердің нәтижесінде аймақ үшін кейбір ерте гүлдейтін шөптесін өсімдіктердің 7 тұқымдастарға жататын 10 атауы айқындалды: Asteraceae (2 түр), Brassicaceae (1 түр), Primulaceae (1 түр), Ranunculaceae (3 түр), Rosaceae (1 түр), Valerianaceae (1 түр), Violaceae (1 түр). Олар орман жиектерінде, орман алаңқайларында, орманның қатты сиреген бөліктерінде байқалады. *Pulsatilla patens* (L.) Mill. және *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. Қазақстанның Қызыл кітабына, *Scorzonera austriaca* Willd., *Antennaria dioica* (L.) Gaertn., *Clausia aprica* (Stephan ex Willd.) Korn.-Trotzky, *Androsace septentrionalis* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz., *Valeriana tuberosa* L. Ресей Федерациясы облыстарының Қызыл кітаптарына, ал кейбіреулері Украина, Беларусь, Молдованың Қызыл кітаптарына да енгізілген. *C. aprica* және *P. humifusa* түрлері үшін химиялық құрамы және қолданылуы жайлы ақпарат жоқ.

Түйін сөздер: ерте гүлдейтін өсімдіктер, Солтүстік Қазақстан, химиялық құрам, өсімдіктерді қолдану, Қызыл кітап.

V.Yu. Kirillov, T.N. Stikhareva, A.N. Rakhimzhanov

Kazakh Research Institute of Forestry and Agroforestry, Shchuchinsk, Kazakhstan

Some species of early-flowering herbaceous plants growing on the territory of Northern Kazakhstan, their composition and use

Abstract: Northern Kazakhstan is characterized by a sharply continental climate, which affects a small number of early flowering plant species. As a result of studies for the region, some early flowering species of herbaceous plants were identified in the amount of 10 names belonging to 7 families: Asteraceae (2 species), Brassicaceae (1 species), Primulaceae (1 species), Ranunculaceae (3 species), Rosaceae (1 species), Valerianaceae (1 species), Violaceae (1 species). They are marked on the edges of forests, forest glades, in highly sparse areas of the forest. It is determined that *Pulsatilla patens* (L.) Mill. and *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. are included in the Red Book of Kazakhstan; *Scorzonera austriaca* Willd., *Antennaria dioica* (L.) Gaertn., *Clausia aprica* (Stephan ex Willd.) Korn.-Trotzky, *Androsace septentrionalis* L., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz., *Valeriana tuberosa* L. are included in the Red Books of regions of the Russian Federation, and some in the Red Book of Ukraine, Belarus, Moldova. There is no information on chemical composition and use for *C. aprica* and *P. humifusa* species.

Keywords: early-flowering plants, Northern Kazakhstan, chemical composition, use of plants, Red Book.

References

- 1 Pavlov N.V. Flora Kazahstana. T. 4 [Flora of Kazakhstan. V. 4] (AN KasSSR, Alma-Ata, 1961, 548 p) [in Russian].
- 2 Pavlov N.V. Flora Kazahstana. T. 6 [Flora of Kazakhstan. V. 6]. (AN KasSSR, Alma-Ata, 1963, 464 p) [in Russian].
- 3 Pavlov N.V. Flora Kazahstana. T. 7 [Flora of Kazakhstan. V. 7] (AN KasSSR, Alma-Ata, 1964, 498 p) [in Russian].
- 4 Pavlov N.V. Flora Kazahstana. T. 8 [Flora of Kazakhstan. V. 8] (Nauka, Alma-Ata, 1965, 448 p) [in Russian].
- 5 Pavlov N.V. Flora Kazahstana. T. 9 [Flora of Kazakhstan. V. 9] (Nauka, Alma-Ata, 1966, 640 p) [in Russian].
- 6 Flora SSSR. T. 25 [Flora of USSR. V. 25] (AN SSSR, Moskva, Leningrad, 1959, 630 p) [in Russian].
- 7 Hrustaleva I.A., Artemova O.A., Kuprijanov A.N., Sultangazina G.Zh. Konspekt flory gosudarstvennogo nacional'nogo parka «Burabaj» (Kokchetavskaja vozvyshehnost', Central'nyj Kazahstan) [Notes of flora of the State National Park "Burabay" (Kokchetav upland, Central Kazakhstan)], Botanicheskie issledovanija Sibiri i Kazahstana [Botanical Research of Siberia and Kazakhstan], 19, 49-77(2013).
- 8 Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushhie cvetkovye rastenija, ih komponentnyj sostav i biologicheskaja aktivnost'. T. 5. Semejstvo Asteraceae (Compositae). Chast' 2. Rody Echinops — Youngia [Plant resources of Russia: Wild growing flowering plants, their component composition and biological activity. V. 5. Family Asteraceae (Compositae). Part 2. Genus *Echinops* - *Youngia*] (Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK, Sankt-Peterburg; Moskva, 2013, 312 p) [in Russian].
- 9 Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstvo Asteraceae (Compositae) [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, utilization; Family Asteraceae (Compositae)] (Nauka, Sankt-Peterburg, 1993, 352 p) [in Russian].
- 10 Xie Y., Guo Q.-S., Wang G.-S. Preparative separation and purification of the total flavonoids in *Scorzonera austriaca* with macroporous resins, *Molecules*, 21, 768(2016). doi:10.3390/molecules21060768
- 11 Semeniv D.V., Belik G.V., Kutsenko T.A., Stoletov Yu.V., Ulanova V.A. The experience of *Antennaria dioica* application in folk medicine and prospects of this plant use for creation of new phytohemostatics, *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 6(47), 37-41(2016).
- 12 Marchyshyn S., Basaraba R., Berdey T. Investigation of phenolic compounds of *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. Herb, *The Pharma Innovation Journal*, 6(8), 9-11(2017).
- 13 Franzke A., Hurka H., Janssen D., Neuffer B., Friesen N., Markov M., Mummenhoff K. Molecular signals for late Tertiary/early Quaternary range splits of an Eurasian steppe plant: *Clausia aprica* (Brassicaceae), *Molecular Ecology*, 13, 2789–2795(2004). doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02272.x
- 14 Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Paeoniaceae – Thymelaeaceae [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, utilization; Family Paeoniaceae – Thymelaeaceae] (Nauka, Leningrad, 1985, 336 p) [in Russian].
- 15 Krasnaja kniga Kazahstana. T. 2.: Rastenija [Red Book of Kazakhstan. V. 2: Plants] (TOO “Art Print XXI”, Astana, 2014, 452 p).
- 16 Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Magnoliaceae – Limoniaceae [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, utilization; Family Magnoliaceae – Limoniaceae] (Nauka, Leningrad, 1984, 460 p) [in Russian].
- 17 Pavlov N.V. Rastitel'noe syr'e Kazahstana [Vegetable raw materials of Kazakhstan] (AN SSSR, Alma-Ata, 1947, 231 p) [in Russian].
- 18 Kirillov V.Ju., Stihareva T.N. O vazhnosti vsestoronnego issledovanija prostrela zheltovotogo (*Pulsatilla flavescens*) v Kazahstane [About importance of comprehensive study of *Pulsatilla flavescens* in Kazakhstan], *Vestnik gosudarstvennogo universiteta imeni Shakarima goroda Semej* [Bulletin of Semey State University named after Shakarim], 3(67), 126-129(2014).
- 19 Dordzhieva V.I., Voloshina T.V., Dzhapova R.R., Ajusheva E.Ch. Morfofiziologicheskie osobennosti adaptacii *Valeriana tuberosa* L. k proizrastaniju v uslovijah stepnoj zony Kalmykii [Morphophysiological features of adaptation of *Valeriana tuberosa* L. to growth in the steppe zone of Kalmykia], *Problemy regional'noj jekologii i prirodopol'zovanija. Estestvennye nauki* [Problems of Regional Ecology and Nature Management. Natural Sciences], 2(43), 56-61(2013).
- 20 Izverskaja T.D., Gendov V.S., Chokyrlan N.G. *Valeriana klubnenosnaja* - *Valeriana tuberosa* L. (Valerianaceae) vo flore Respubliki Moldova [*Valeriana tuberosa* L. (Valerianaceae) in the flora of the Republic of Moldova], *Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe*, 9(3), 127-131(2016).
- 21 Gorbunov Ju.N. Valeriany flory Rossii i sopredel'nyh gosudarstv: Morfologija, sistematika, perspektivy ispol'zovanija [Valerians of flora of Russia and neighboring countries: Morphology, systematics, prospects of use] (Nauka, Moskva, 2002, 207 p) [in Russian].
- 22 Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Caprifoliaceae – Plantaginaceae [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, utilization; Family Caprifoliaceae – Plantaginaceae] (Leningrad, Nauka, 1990, 328 p) [in Russian].
- 23 Bubenichikov R.A. Fenol'nye soedinenija i polisaharidy fialki sobach'ej [Phenolic compounds and polysaccharides of dog violet], *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija* [Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy], 1, 156-159(2004).

Сведения об авторах:

Кириллов В.Ю.– кандидат химических наук, ассоциированный профессор, заместитель генерального директора по науке Казахского научно-исследовательского института лесного хозяйства и агролесомелиорации, ул. Кирова, 58, Щучинск, Казахстан.

Стихарева Т.Н.– кандидат биологических наук, главный ученый секретарь Казахского научно-исследовательского института лесного хозяйства и агролесомелиорации, ул. Кирова, 58, Щучинск, Казахстан.

Рахимжанов А.Н.– доктор PhD, и.о. генерального директора Казахского научно-исследовательского института лесного хозяйства и агролесомелиорации, ул. Кирова, 58, Щучинск, Казахстан.

Kirillov V. Yu.– Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Deputy Director General for Research, Kazakh Research Institute of Forestry and Agroforestry, Kirov Str., 58, Shchuchinsk, Kazakhstan.

Stikhareva T. N.– Candidate of Biological Sciences, Chief Scientific Secretary, Kazakh Research Institute of Forestry and Agroforestry, Kirov Str., 58, Shchuchinsk, Kazakhstan.

Rakhimzhanov A. N.– PhD, Acting Director General, Kazakh Research Institute of Forestry and Agroforestry, Kirov Str., 58, Shchuchinsk, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 27.09.2019

Zh.I.Kuanbay¹, S.A.Abiyev², V.N.Tikhomirov³, M.J.Ishmuratova⁴,
G.B.Admanova⁵

^{1,2} Department of General Biology and Genomics of L.N.Gumilyov Eurasian National University,
Nur-Sultan, Kazakhstan

³ Department of Botany of Belarusian State University, Minsk, Belarus Republic

⁴ Department of Botany of E.A.Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan

⁵ Department of Biology of K.Zhubanov Aktobe Regional State University, Aktobe, Kazakhstan

(E-mail: ¹ zhenia_80@bk.ru, ² abiyev_sa@enu.kz, ³ tikhomirov_v_n@list.ru,

⁴ margarita.ishmur@mail.ru, ⁵ admanova@mail.ru)

Taxonomic analysis of the Dongyztai flora

Abstract: This article provides a taxonomic analysis of the Dongyztai flora. It is represented by 314 species from 170 genera and 40 families. The materials were obtained based on field studies, the literature data were taken into account. The analysis of the family-species spectrum testifies that 5 leading families make up 60.9 % (186 species). The leading families in the area are *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*. The key position is taken by *Amaranthaceae* family, represented by 67 species which is 21.6 % of the flora species. The second position is taken by *Asteraceae*, which includes 40 species (12.8 %). The predominance of these families in the flora of the region characterizes it as continental one. The analysis of the structure of the leading families showed that the spectrum of flora refers to the Turanian, Mediterranean and boreal types.

Keywords: Dongyztai flora, vascular plants, the taxonomic analysis.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-59-65>

Introduction. Dongyztai chink is insufficiently explored territory, it is located in a remote part of the Aktobe region at the junction of Atyrau, Mangystau regions.

Dongyztai chink lies in the southwestern part of the Aktobe region between 46° 08' n.l. - 46° 68' n.l. and 56° 13' E - 57° 60' E. It is the Northern part of the Ustyurt plateau covering an area of not less than 900 km². The territory is located on the rocky and hollow-wavy surface of the accumulative-denudation plain within the Ustyurt plateau in the natural zone of desert with a sharply continental arid climate [1].

Characterization of flora is an important indicator of the heterogeneity degree of the territory of flora, of the diversity of physical and geographical conditions

In the East the chink is limited with high spurs of Chagray Cape, in the South – with higher spurs of the Ustyurt plateau and in the East – with a very low ridge of Karamay spurs of Ustyurt, in the West – with the Zheltau mountains and in the North-West – with Zmystan island hill.

The climate of the region is of the type of desert of boreal type. The general features of the climate of the region are sharp temperature contrasts, cold severe winter and hot summer, rapid transition from winter to summer and short spring period, unsteadiness and scarcity of precipitation, great dryness of air, intensity of evaporation processes, instability of climatic parameters in time and a large amount of solar heat. The duration of sunshine is 2300-2700 hours per year. According to long-term observations of the weather station in Ayakkum, the coldest month in the region is January with average monthly air temperature of -10.1 °C, the absolute minimum temperature is -36.9 °C, and the hottest month is July with average monthly air temperature +26.6 °C, the absolute maximum is +40.7 °C.

Precipitation is the main factor of groundwater supply. Annual precipitation changes for the areas within 195-262 mm. Little rainfall and high air temperature cause a large humidity deficit. The total amount of evaporation per year from the free water surface reaches 1200-1500 mm, exceeding 5-6 times the amount of annual precipitation. Summer precipitation is almost completely spent on evaporation [2].

Low-humic sierozemic and chestnut soils predominate in the region, commonly saline and in some places – strongly saline [3].

Dongyzttau chink is located in the natural zone of desert. The vegetation of the area is dominated by communities with a predominance of belozemelnaya polyn or zhusan (*Artemisia teirae-albae*) and itsigek (*Anabasis aphylla*) on elevated plains (Viktorov, 1971). The slopes are covered with species of mortuk (*Eremopyrum orientale*, *E. triticeum*).

To fill the existing gap in the knowledge about the nature of Kazakhstan we carried out a floristic survey of the Donyzttau chink. Below are the main indicators characterizing the flora of the region under study. After all, the characteristic of flora is an important parameter, indicating the degree of heterogeneity of the territory of flora, the diversity of physical and geographical conditions. Systematic analysis is a logical completion of the flora inventory and is intended, first of all, to reveal the level of abundance of flora species, its taxonomic diversity, as well as the ratio of species between the systematic categories of higher ranks, i.e. the systematic structure of this flora [4].

Materials and methods. Field studies provided the materials for the work. The studies were based on the enroute method, the sites were visited 2-3 times during the season. All flowering and vegetating plants were taken into account, floristic lists of the surveyed areas were compiled, on the basis of which a General list of species of vascular plants was compiled. Herbarium samples stored in the herbarium Fund of the Institute of botany and Phytointroduction of RK MES, Mangyshlak experimental Botanical garden, Botanical Institute named after V. L. Komarov RAS, as well as the literary data in "The Results of a complex expedition to the South-Eastern part of Zhylyoi district of Atyrau region of the Republic of Kazakhstan" (Astana, 2017), "Flora of Kazakhstan" (1956-1966), "Guide to plants of Central Asia" (1968-1993), "The sketches on the flora of Aktobe floristic district" (Aipeisova, 2012), «To the study of species composition of wild counterparts of cultivated plants grown of Mangistau region» (Imanbayeva A.A., Ishmuratova M.Yu., Duisenova M.I., Tuyakova A.T., 2015) were analyzed[5,6,7,8,9].

The Plant List (2013) Version 1.1 database was used to unify the material. The volume of the flowering plant family was taken according to the APG IV system (Angiosperm Phylogeny Group) (2016).

The definition of plants, clarification of their systematic position in taxonomically complex groups was given according to the following literary sources: "Guide to higher vascular plants" (Aktau, 2006), "Guide to cereals of Kazakhstan" (1948), "Cereals of the USSR" (Tsvelev, 1976), as well as using monographic treatments for individual groups of plants[10,11,12].

Results and discussion. The conducted research allowed to establish that 314 species of higher plants belonging to 170 genera and 41 families were found on the area under study.

Gnetopsida class is represented by two species (0.63 % of the total number of flora species). The vast majority of species refer to angiosperms. *Magnoliophyta* group numbers 303 species (99.3 %). 38 species out of them (12.1 percent) refer to the *Liliopsida* class, and 274 species (87.2 %) refer to *Magnoliopsida* class. The ratio of monocotyledonous and dicotyledonous species is 1:7.2. The share of gymnosperms is insignificant (table 1).

Table 1 - Key taxonomic indicators of the Dongyzttau flora

Taxonomic indicators	Flora of Dongyzttau
Total number of species	314
Total number of genera	170
total number of families	40
The average number of species in a genera	1.8
The average number of species in a familie	7.6
The average number of genera in a familie	4.1
Number of single species	11
Number of single families	11
The maximum number of species in one genera	13
The maximum number of species in one familie	67
The maximum number of genera in one familie	25
The share of species in the top 10 families%	78.3
The share of Monocots among angiosperms, %	12.1

The share of Eudicots among angiosperms, %	87.2
--	------

The share of the top ten according to the number of types of families is made up by 239 types, accounting for 78.3% of the total diversity of the Dongyzttau flora (table 2).

Table 2 - The taxonomic composition of the Dongyzttau flora

Nº	Family	Number of genera, un.	Relative index of genera, %	Number of species, un.	Relative index of species, %
1	<i>Amaranthaceae</i>	25	14.70	67	21.33
2	<i>Asteraceae</i>	20	11.76	40	12.73
3	<i>Brassicaceae</i>	20	11.76	31	9.87
4	<i>Poaceae</i>	16	9.41	27	8.59
5	<i>Fabaceae</i>	8	4.70	26	8.28
6	<i>Boraginaceae</i>	10	5.88	16	5.09
7	<i>Caryophyllaceae</i>	7	4.11	14	4.45
8	<i>Apiaceae</i>	8	4.70	11	3.50
9	<i>Polygonaceae</i>	5	2.94	8	2.54
10	<i>Ranunculaceae</i>	5	2.94	6	1.91

The dominant family with more than 20 species is the family of *Amaranthaceae* - 67 species, the second position is with *Asteraceae* - 40 species, in third position is *Brassicaceae* - 31 species, slightly is inferior to *Brassicaceae* family *Poaceae* -27 species, in fifth position is the family *Fabaceae* - 26 species. In total the first five families include 88 genera (51.7% of the total number of genera) and 190 species (61% of the total number of species).

It is obvious that the species of vascular plants from different families are not equally represented in the Dongyzttau flora (figure 1).

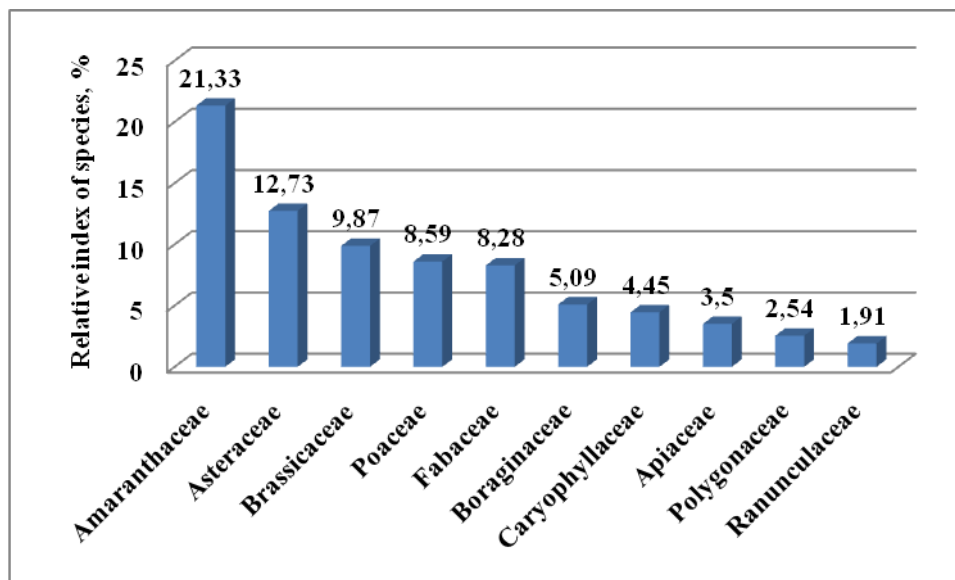


Figure 1. Representation of the leading families in the Dongyzttau flora

Many-genera families, presented in the Dongyzttau flora with more than ten genera are the following: *Amaranthaceae* - 25 genera, *Asteraceae* - 20 genera, *Brassicaceae* - 20 genera, *Poaceae* -16 genera. In total they include 80 genera (47% of the total number of genera) and 164 species (52.2% of the total number). All the named genera are multiple. The following families have the greatest species diversity (more than 6 species): *Amaranthaceae* - 67 (21%), *Asteraceae*-40(12.73%), *Brassicaceae*-31 (9.8%), *Poaceae*-27 (8.59%), *Fabaceae*-26 (8.28%), *Caryophyllaceae*-14 (4.59%), *Boraginaceae*-16 (5.09%), *Apiaceae*-11 (3.50%), *Polygonaceae*-8 (2.54%), *Ranunculaceae*-6 (1.96%), other 69 species (20.8%) refer to 30 families which contain from one to five species. *Polygonaceae* family contains 5 species. Families with 3-4 species number 10. They contain 34 species, i.e. 11.1% of the total

number. 4 species are distinguished in the families *Papaveraceae*, *Nitrariaceae*, *Plumbaginaceae*, *Tamaricaceae*. Families *Liliaceae*, *Amaryllidaceae* (*Alliaceae*), *Asparagaceae*, *Rubiaceae*, *Convolvulaceae*, *Lamiaceae* contain 3 species each. 18 families contain only 1-2 species each: *Zygophyllaceae*, *Rosaceae*, *Geraniaceae*, *Rutaceae*, *Capparaceae*, *Apocynaceae*, *Caprifoliaceae* (*Dipsacaceae*), *Ixioliriacae*, *Cyperaceae*, *Berberidaceae*, *Crassulaceae*, *Elaeagnaceae*, *Euphorbiaceae*, *Malvaceae*, *Franke niaceae*, *Solanaceae*, *Phrymaceae*, *Linderniaceae*.

This species spectrum of the Dongyzttau flora is a clear indicator of the heterogeneity degree of the flora territory, testifies to the diversity of its geographical conditions.

This family structure is the result of the location of the study area near the border of the Boreal and ancient Mediterranean sub-kingdoms of the Holarctic Kingdom (Kamelin, 2012). The leading position of *Amaranthaceae*, *Boraginaceae*, *Polygonaceae* families are typical for Turanian flora, the high number of species of the *Asteraceae*, *Fabaceae* and *Rosaceae* families testifies to the influence of Mediterranean flora proper, the *Caryophyllaceae*, *Ranunculaceae*, *Brassicaceae*, *Cyperaceae* families are indicative of the boreal features of flora [13].

According to the table of multi-species genera the following families include a little, more than 10 species: *Astragalus* – 13 species, *Artemisia* – 12 species, *Salsola* – 10 species, two genera - *Anabasis*, *Suaeda* contain 7 species each, two genera - *Stipa*, *Climacoptera* 6 species each, *Atriplex*, *Lappula* - 5 species each. Such a structure of the largest genera is specific to the Turan floristic province (table 3).

Table 3 - Leading genera of the Dongyzttau flora

№	Genus	Absolute index, un.	Relative index, %
1	<i>Astragalus</i>	13	4.26
2	<i>Artemisia</i>	12	3.93
3	<i>Salsola</i>	10	3.27
4	<i>Anabasis</i>	7	2.29
5	<i>Suaeda</i>	7	2.29
6	<i>Stipa</i>	6	1.19
7	<i>Climacoptera</i>	6	1.19
8	<i>Atriplex</i>	5	1.63
9	<i>Lappula</i>	5	1.63

The data show that the major part of the flora structure is occupied by one-two-species genera - 26 genera (65% of the total). They include 53 species, which is 17.3% of the total number of species. Thus, the enrichment of the studied flora with genera is in process which indicates the predominance of allochthonous trends (Tolmachev, 1960) in the formation of flora.

L. I. Malyshev [14,15] proposed an indicator that allows to estimate the ratio of autochthonous and allochthonous trends in the process of florogenesis. It is the relative difference between the actual (S) and the estimated (S1) number of species:

$$A = (S - S1)/S$$

The calculated number of species is determined by the empirical quadratic equation:

$$S1 = 314.4 + 0.0045383 * G^2,$$

where G is the number of genera in a given flora, hence

$$S1 = 314.4 + 0.0045383 * 1682 = 442.4$$

$$A = 305 - 442.4/305 = -0.45$$

The negative value of the autonomy index of this flora shows the allochthonous nature of the flora. Since the ratio of species to genera also depends on the size of the flora, this can be partly explained by the relatively small size of the studied region (Malyshev, 1987). The factor of floristic study insufficiency of the territory is not excluded, as in recent years the surveyed region has seen

long droughts with low rainfall in the spring. This may lead to the transfer of the part of plant species to an idle state and the impossibility of detection in the studied period of time. Therefore to understand more completely the Dongyztai flora long-term observations are required.

Conclusion

To the present time the Dongyztai territory has 314 species registered belonging to 170 genera and 40 families. The leading families include *Amaranthaceae* – 67, *Asteraceae*-40, *Brassicaceae*-31, *Poaceae*-27, *Fabaceae*-26. The studied flora combines the features of the flora of Turanian, Mediterranean and Boreal types. The high relative proportion of genera compared to the number of species in the studied flora shows that it is predominantly of allochthonous nature.

Список литературы

- 1 Байганин ауданы. Анықтамалық кітап.-Ақтөбе, 2008.-С.32-34
- 2 Агроклиматические ресурсы Актюбинской области научно-прикладной справочник/Под ред. С.С. Байшоланова - Астана, 2017.-С.39-69
- 3 Балясный В.И. Почвы саксаульников Северного Приаралья и Устюрта (в связи с проблемой фитомелиорации пастбищ): автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биол.наук.-Москва, 1981.-28 с
- 4 Гаращенко А.В. Флора и растительность Верхнекарской котловины.- Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1993.-С.14
- 5 Отчет по научной исследовательской работе. "Результаты комплексной экспедиции в юго-восточную часть Жылыойского района Атырауской области Республики Казахстан". -Астана, 2017.-С.43-68
- 6 Флора Казахстана. В 9-х т.-Алма-Ата, 1956-1966.
- 7 Определитель растений Средней Азии. В 10-х т.-Ташкент. Издательство "Фан" Узбекской ССР. 1968-1993
- 8 Айпеисова С.А. Коспект флоры Актюбинского флористического округа.- Актөбе, 2012. -178 с.
- 9 Иманбаева А.А.,Ишмуратова М.Ю., Дуйсенова М.И., Туякова А.Т. К изучению видового состава диких сороричей культурных растений Мангыстауской области // Вестник Карагандинского государственного университета. Серия Биология, 2015.- №3(79)-С.44-52
- 10 Аралбай Н.К., Кудабаяева Г.М. Государственный кадастр растений Мангыстауской области. Определитель высших сосудистых растений.-Ақтау, 2006.-427с.
- 11 Гамаюнова А.П., Медведева Е.А., Кузнецов Н.М. Определитель злаков Казахстана.-Алматы, 1948.-139 с.
- 12 Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Издательство Л.: "Наука", 1976.-786 с.
- 13 Толмачев А. И. Методы сравнительной флористики и проблемы флорогенеза. -Новосибирск. Издательство "Наука". 1986.-С.72-76
- 14 Малышев Л.И. Теоритические и методические проблемы сравнительной флористики//Материалы II рабочего совещания по сравнительной флористике. Неринга, 1983.-С.147
- 15 Малышев Л.И. Генезис высокогорных флор Сибири. Изд. СО АН СССР. Серия биологических наук, 1976. Вып 2. -№10.-С.47-55

Ж.І.Қуанбай¹, С.Ә.Әбиев², В.Н.Тихомиров³, М.Ю.Ишмуратова⁴, Г.Б.Адманова⁵

^{1,2} Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

³ Белоруссия мемлекеттік университеті, Минск, Беларусь республикасы

⁴ Е.А.Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университеті, Қарағанды, Қазақстан

⁵ Қ.Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік мемлекеттік университеті, Ақтөбе, Қазақстан

Доңызтау флорасының таксономиялық талдауы

Аңдатпа: Мақалада Доңызтау флорасына таксономиялық талдау жасалған. Флора 40 тұқымдасқа жататын 170 туыс пен 314 түрден құралған. Материалдар далалық экспедициялар нәтижелері мен әдеби мәліметтерге сүйене отырып алынған. Талдау нәтижелері басты 5 тұқымдас барлық өсімдік жамылғысының 60,9%(186 түр) құрайтынын көрсетті. Зерттеу аймағындағы негізгі тұқымдастарға *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae* жатады. *Amaranthaceae* тұқымдасы жалпы флораның 67 түрін(21,6 %) құрап, басымдылық танытты. Екінші орында *Asteraceae* 40 түр (12,8%). Мұндай көрсеткіш аймақты континентальдығын айқындайды. Басым тұқымдастар құрылымының талдау нәтижелері флора спектрі Тұран, Жерортатеңіздік және бореалды типке жататындығын көрсетті.

Түйін сөздер: Доңызтау флорасы, түтікті өсімдіктер, таксономиялық талдау.

Ж.И.Куанбай¹, С.А.Абиев², В.Н.Тихомиров³, М.Ю.Ишмуратова⁴, Адманова Г.Б⁵

^{1,2} Кафедра общей биологии и геномики Евразийского национального университета имени Л.Н.Гумилева, Нур-Султан, Казахстан

³ Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

⁴ Карагандинский государственный университет имени Е.А.Букетова, Караганда, Казахстан

⁵ Актюбинский региональный государственный университет имени К.Жубанова, Актобе, Казахстан

Таксономический анализ флоры Донгызтау

Аннотация: В данной статье приводится таксономический анализ флоры Донгызтау. Она представлена 314 видами из 170 родов и 40 семейств. Материалы получены в результате полевых исследований, учтены литературные данные. Анализ семейственно-видового спектра показывает, что 5 ведущих семейств составляет 60,9 % (186 вида). Лидирующими семействами в данном районе являются *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*. Ведущее место занимает семейство *Amaranthaceae*, представленное 67 видами, что составляет 21,6 % от видов флоры. Второе место занимает *Asteraceae*, включающее 40 видов (12,8 %). Преобладание этих семейств во флоре района характеризует её как континентальную. Анализ структуры ведущих семейств показал, что спектр флоры относится к туранскому, средиземноморскому и бореальному типам.

Ключевые слова: флора Донгызтау, сосудистые растения, таксономический анализ.

References

- 1 Baiganin audany. Anyktamalyk kitap [Baiganin district. Reference book] Aktobe, 2008, p.33-34 [in Kazakh]
- 2 Agroklymatycheskiye resursy Aktubynskoi oblasti. Nauchno-prikladnoi spravochnik [Agroclimatic resources of the Aktobe region. Scientific reference book] / Pod redakcii C.C.Baisholanova. Astana, 2017, p.39-69 [in Russian]
- 3 Baliyasny V.I. Pochvy saksaulnikov Severnogo Pryaraliya i Ustyurta (v svyazy s problemoi phytomelioracii pastbish) [Soils of Saksauls of the Northern Aral and Ustyurt], avtoreferat dissertacii kandidata biol.nauk Moscow, 1981, 28p[in Russian]
- 4 Garashenko A.V. Flora i rastitelnost Verkhnecharskoi kotloviny [Flora and vegetation of the Verkhnecharskoy hollow] (Nauka, Sibirskoe otdelenie, 1993, 14p.). [in Russian]
- 5 Otchet po nauchnoi issledovatel'skoi rabote "Rezultaty kompleksnoi yekspedycii v jgo-vostochnuyi chast' Zhylyoiskogo rayona Atyrauskoj oblasti Respubliki Kazakhstan" [Research report "The Results of a complex expedition to the South-Eastern part of Zhylyoi district of Atyrau region of the Republic of Kazakhstan"]. Astana,2017. [in Russian]
- 6 Flora Kazakhstan. V 9-x t [Flora of Kazakhstan. In 9 vol], Almaty, 1956- 1966. [in Russian]
- 7 Opredelitel' rastenii Sredney Azii. V 10-x t [Guide to plants of Central Asia] (Fan, Tashkent, 1968-1993). [in Russian]
- 8 Aypeisova S.A. Konspekt flory Aktjbinskogo flotisticheskogo okruga. [The sketches on the flora of Aktobe floristic district], Aktobe, 2012, 178p. [in Russian]
- 9 Imanbayeva A.A., Ishmuratova M.Yu., Duisenova M.I., Tuyakova A.T. K izucheniyu vidovogo sostava dikich sorodichei kul'turnych rastenii Mangistauskoj oblasti [To the study of species composition of wild counterparts of cultivated plants grown of Mangistau region], Vestnik Karagandinskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Biologiya [Bulletin of the Karaganda State University. Biology series], 3(79), p.44-52,(2015) [in Russian]
- 10 Aralbay N.K., Kudabayeva G.M. i dr. Gosudarstvennyi kadastr rastenii Mangystauskoj oblasti. Opredelitel' vysshych sosudistych rastenii [To the study of species composition of wild counterparts of cultivated plants grown of Mangistau region . Guide to higher vascular plants], Aktau, 2006, 427 p. [in Russian]
- 11 Gamajnova A.P. Medvedeva E.A., Kuznetsov N.M. Opredelitel' zlakov Kazakhstan [Guide to cereals of Kazakhstan] (Alma-Ata, 1948, 139p.) [in Russian]
- 12 Tzevelev N.N. Zlaki SSSR [Cereals of the USSR] (Nauka, Leningrad, 1976, 788p.) [in Russian]
- 13 Tolmachev A.I. Metody sravnitel'noi floristiki i problem florogeneza. [Methods of comparative floristics and problems of florogenesis] (Nauka, Novosibirsk, 1986, p.72-76) [in Russian]

- 14 Malyshev L.I. Toereticheskiye I metodicheskiye problemy sravnitel'noi floristici. Materialy II rabochego soveshania po sravnitel'noi floristice. [Theoretical and methodological problems of comparative floristics. Materials of the second workshop on comparative floristics], Neringa, 1983, 147p[in Russian]
- 15 Malyshev L.I. Genezis vysocogornych flor Sibiri. [Genesis of mountain flora of Siberia], Seriya biologicheskaya [Biology series], 2(10), p.47-55 [in Russian]

Сведения об авторах:

Қуанбай Ж.І. – Жалпы биология және геномика кафедрасының докторанты, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қажымұқан көш.13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Әбиев С.Ә. – биология ғылымдарының докторы, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, жалпы биология және геномика кафедрасы, Қажымұқан көш.13, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Тихомиров В.Н. – биология ғылымдарының кандидаты, доцент, Белоруссия мемлекеттік университеті ботаника кафедрасы, Курчатов көшесі 10, Минск, Беларусь республикасы.

Ишмуратова М.Ю. – биология ғылымдарының кандидаты, Е.А.Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университеті, ботаника кафедрасының профессоры. Университет көшесі 28, Қарағанды, Қазақстан.

Адманова Г.Б. – биология ғылымдарының кандидаты, биология кафедрасының аға оқытушысы, Қ.Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік мемлекеттік университеті, Ә.Молдағұлова даңғ.34, Ақтөбе, Қазақстан.

Kuandai Zh.I. – doctoral of the Department of General Biology and Genomics, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Kazhymuchan str, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Abiyev S.A. – doctor of biological sciences, Department of General Biology and Genomics, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Kazhymuchan str, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Tikhomirov V.N. – candidate of biological sciences, Department of Botany, Belarus State University, Kurchatov 10, Minsk, Belarus Republic.

Ishmuratova M.J. – candidate of biological sciences, professor of the Department of Botany, E.A.Buketov Karaganda State University, Karaganda, Kazakhstan.

Admanova G.B. – candidate of biological sciences, senior teacher of the Department of Biology, K.Zhubanov Aktobe Regional State University, A.Moldagulova Prospect, 34, Aktobe, Kazakhstan.

Received 04.11.2019

А. М. Рахметова¹, Н. П. Бгатова², Ш. М. Жумадина³

¹ Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан

² Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия,

³ Казахский агротехнический университет им. С. Сейфулина, Нур-Султан, Казахстан
(E-mail: ¹ asel-rakhmetova@mail.ru, ² n_bgatova@ngs.ru, ³ ms.zhumadina@mail.ru)

Структурная организация почки в условиях отдаленного опухолевого роста

Аннотация: В эксперименте на мышах линии СВА изучали структурную организацию почки при развитии перевиваемой в область бедра экспериментальной гепатокарциномы – 29. Методами световой и электронной микроскопии оценивали ультраструктуру нефрона. Через 30 суток эксперимента у животных с опухолевым ростом в структуре почки выявляли уменьшение размеров просвета капсулы почечного тельца, снижение объемной плотности капиллярных клубочков, увеличение размеров интерстициальных пространств почечного тельца. Отмечали набухание цитоплазмы подоцитов, уменьшение количества и толщины цитоподий, снижение количества фенестр в эндотелиоцитах клубочковых капилляров, набухание эпителиоцитов проксимального и дистального отдела почки. Отмеченные изменения свидетельствуют об изменении барьерных свойств почечного фильтра в условиях отдаленного опухолевого роста.

Ключевые слова: почка, гепатокарцинома-29, структура нефрона.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-66-73>

Актуальность темы. Почка является органом выделения, однако она выполняет еще множество функций. Через сосуды почек протекает четверть ежеминутного объема крови, которое сердце выбрасывает в аорту. Почки являются органом преобразования белков, липидов и углеводов. В условиях голодания в почках образуется до половины глюкозы из органических кислот, которая поступает в кровь [1].

Почки человека являются биологическими фильтрами организма, благодаря которым очищается проходящая через них кровь и выводятся ненужные организму вещества. Почки играют важную гомеостатическую роль в организме [2]. Они участвуют в регуляции объема крови и внеклеточной жидкости, концентрации осмотически активных веществ в крови и других жидкостях тела, ионного состава сыворотки крови и ионного баланса организма, кислотно-основного состояния, артериального давления, эритропоэза, свертывания крови, модуляции действия гормонов благодаря образованию и выделению в кровь биологически активных веществ, в обмене белков, липидов и углеводов, выделении из организма конечных продуктов азотистого обмена и чужеродных веществ, избытка органических веществ (глюкоза, аминокислоты и др.), поступивших с пищей или образовавшихся в процессе метаболизма.

В последние годы рак почки занимает одно из ведущих мест по темпам прироста среди онкоурологических заболеваний и составляет 3 % от всех злокачественных новообразований [3].

В связи с тем, что почка является гомеостатическим органом, участвующим в поддержании постоянства основных физико-химических констант жидкостей внутренней среды, в циркуляторном гомеостазе, стабилизации показателей обмена различных органических веществ, то нарушение функции почек будут неблагоприятно сказываться на функциональной активности всех органов и систем. Особенно это касается онкологических заболеваний, которые характеризуются тяжелым течением.

Цель исследования: Выявить структурные изменения в почках в условиях отдаленного опухолевого роста.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проведено на мышах-самцах линии СВА массой 18-20 г в возрасте 3-х месяцев. Животных содержали на стандартной

диете со свободным доступом к воде и пище. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

В эксперименте были сформированы 2 группы животных ($n=20$). В 1 группу вошли интактные мыши; во 2 группу – животные с развитием опухолевого процесса. Для индукции опухолевого роста использовали клетки гепатокарциномы-29 (Г-29). Г-29 получена и верифицирована сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН. Клетки Г-29 перевивали мышам линии СВА в брюшную полость, через 10 суток производили забор асцитической жидкости, суспендировали в физиологическом растворе и вводили по 2×10^6 клеток в 100 мкл интактным животным в мышцу правого бедра. Забор материала для исследований проводили через 30 суток эксперимента. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом методом кранио-цервикальной дислокации.

Для исследования в электронном микроскопе образцы почек фиксировали в 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в 1 % растворе OsO_4 на фосфатном буфере ($\text{pH}=7,4$), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали толудиновым синим и изучали под световым микроскопом "LEICA DME". Ультратонкие срезы толщиной 70-100 нм контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1010. При увеличении $\times 12000$ получали электронограммы фрагментов почечных телец, эпителиоцитов проксимального и дистального отделов. Полученные микрофотографии морфометрировали с помощью компьютерной программы Image J. Определяли объемные плотности просветов капсулы, капиллярных клубочков, интерстициальных пространств почечного тельца, диаметры эпителиоцитов проксимального и дистального отделов нефрона, размеры базальных мембран клубочковых капилляров и эпителиоцитов проксимального и дистального отдела нефрона. Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием пакета программ STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., США). Значимость различий оценивали, используя U-критерий Манна-Уитни, при уровне достоверности 95% ($p < 0,05$).

Результаты исследования. Результаты исследования показали, что через 30 суток эксперимента у животных с опухолевым ростом в структуре почки отмечали уменьшение размеров просвета капсулы (рис.1) почечного тельца на 19 %. Объемная плотность капиллярных клубочков снизилась на 10 %. Размеры интерстициальных пространств почечного тельца были увеличены на 15 % (табл. 1).

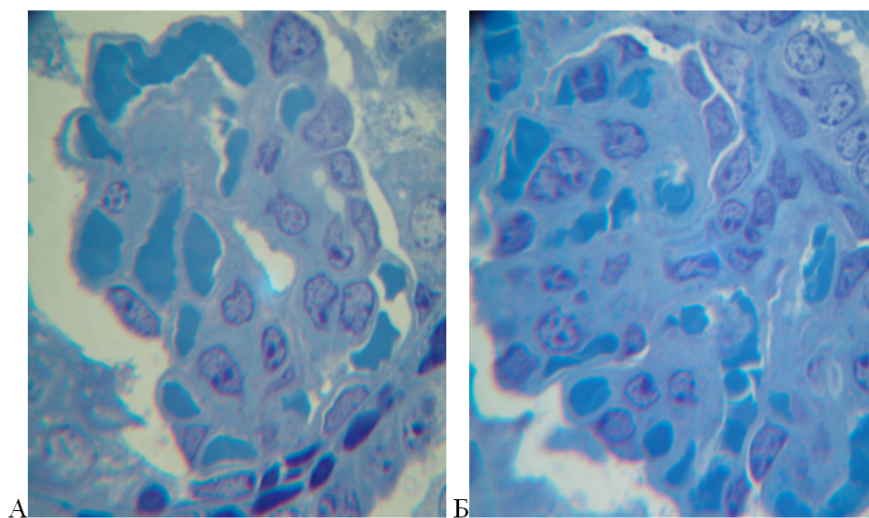


Рисунок 1 – Структура почечного тельца мышей линии СВА контрольной группы (А) и через 30 суток опухолевого роста. Возрастание просвета капсулы клубочка в условиях отдаленного опухолевого роста (Б). Окраска толудиновым синим. Увеличение $\times 400$.

Таблица 1 – Объемная плотность структур почечного тельца у мышей

Параметр, Vv, %	Группы (M ± SD)	
	Контроль	30 сутки опухолевого роста
Просвет капсулы	15,54±3,99	12,55±3,96*
Клубочковые капилляры	45,13±6,79	40,52±11,94*
Межклеточное пространство	20,56±10,79	23,56±6,13

Примечание: Vv – объемная плотность, %:

* - по отношению к группе контроля.

Из литературных данных известно, что функция почек заключается в фильтрации крови и концентрации метаболитических отходов в моче и имеет функционально сложную структуру. Нормальная функция почечных клубочков сохраняет циркулирующие клетки и ценные макромолекулярные компоненты плазмы в крови, в результате чего в моче остаются лишь следовые количества белков. Эндотелиальные клетки клубочковых капилляров, подоциты, обернутые вокруг них, в слитый внеклеточный матрикс, которые образуют эти клетки. Они в целом, содержат гломерулярный фильтрующий барьер, динамический и высокоселективный фильтр, который просеивается на основе молекулярного размера и электрического заряда. Современное понимание структурной организации и клеточной и молекулярной основы почечной фильтрации основано на исследованиях клубочковых заболеваний человека и животных моделях клубочковой дисфункции [4]. Изменения в клубочковой фильтрации могут значительно повлиять на динамику и функции капсулы Боумена [5].

Клубочек, фильтрующая единица почек, является уникальным пучком капилляров, выстланных деликатным фенестрированным эндотелием, сложной сеткой белков, которые служат в качестве клубочковых базальной мембраны и специализированных висцеральных эпителиальных клеток, которые образуют щели между диафрагмами переплетения процессов ножками. Фильтрационный барьер состоит из эндотелия капилляров, базальной мембраны и фильтрационных щелей между ножками подоцитов. Это расположение позволяет осуществлять непрерывную фильтрацию объема плазмы [6].

Клубочек имеет 3 резидентных клетки, а именно, мезангиальные клетки, которые производят матрицу мезангиальной, эндотелиальные клетки, которые выстилают клубочек капилляров и подоциты, которые покрывают наружную поверхность клубочковой базальной мембраны. Париетальные эпителиальные клетки (PrECs), которые выстилают капсулу Боумена, не являются частью клубочкового пучка, но могут играть важную роль в нормальной функции клубочка [7].

Функциональной единицей почки является нефрон, которых в здоровых почках насчитывается до 1 миллиона и который имеет довольно сложное строение. В состав нефрона входят почечный клубочек, проксимальный каналец, тонкая часть петли Генле (тонкое нисходящее и тонкое восходящее колена), толстое восходящее колено петли Генле, дистальный каналец и собирательная трубка. Почечный клубочек окружен Боуменовой капсулой, сформированной плотной базальной мембраной и выстланной плоским однослойным (париетальным) эпителием. Внутри Боуменовой капсулы находится клубочек кровеносных капилляров.

Стенки капилляров выстланы фенестрированным эндотелием с диаметром фенестр более 100 нм. Снаружи эндотелий капилляров окружен тонкой базальной мембраной и прилегающими друг к другу отростками подоцитов. Между отростками подоцитов имеются щелевые диафрагмы размером 50–60 нм, закрытые тонкой пленкой. В перикапиллярном пространстве Боуменовой капсулы локализованы также электронно-плотные мезангиальные клетки. Клетки проксимального почечного канальца характеризуются прежде всего присутствием массы микроворсинок (щеточной каймы) на их апикальной поверхности и мембранными складками на базальной поверхности. Эти структуры обеспечивают увеличение площади клеточной поверхности, необходимой для локализации огромного количества мембранных транспортных белков. Апикальная область цитоплазмы содержит вакуоли различного размера. Базальные складки ассоциированы с многочисленными митохондриями [8].

Наблюдали набухание цитоплазмы подоцитов. Количество цитоподий имело тенденцию к снижению, а толщина цитоподий возрастала (табл. 2, рис. 2).

Подоциты – это узкоспециализированные клетки клубочка почки, которые охватывают капилляры и соседние клетки капсулы Боумена. В процессе фильтрации подоциты играют активную роль в предотвращении проникновения белков плазмы в ультрафильтрат мочи, обеспечивая барьер, включающий фильтрационные щели между цитоподиями, которые в совокупности представляют собой динамическую сеть клеточных расширений. Цитоподии соседних подоцитов переплетаются и образуют сеть из узких и довольно равномерных щелей. Фенестрированные эндотелиальные клетки удерживают клетки крови, но позволяют проходить небольшим растворенным веществам находящимся у базальной мембраны, менее проницаемой для макромолекул, в частности для альбумина. Динамика цитоскелета и структурная пластичность подоцитов, а также передача сигналов между каждым из этих отдельных слоев имеют важное значение для эффективной клубочковой фильтрации и, следовательно, для нормальной функции почек [9].

Повреждение подоцитов является важным шагом в развитии большого количества гломерулярных заболеваний. Клубочковые подоциты – это уникальные клетки со сложными отростками, которые покрывают наружный слой клубочковой базальной мембраны, и являются основными клетками, составляющими фильтрационные барьеры клубочковых капилляров. Мало что известно о способах и регуляции энергетической активности подоцитов, а также о типе энергетического субстрата, который в основном используется для их активности. Недавние исследования показали, что нарушение функции передачи энергии в подоцитах может лежать в основе повреждения, связанного с многочисленными заболеваниями клубочков [10].

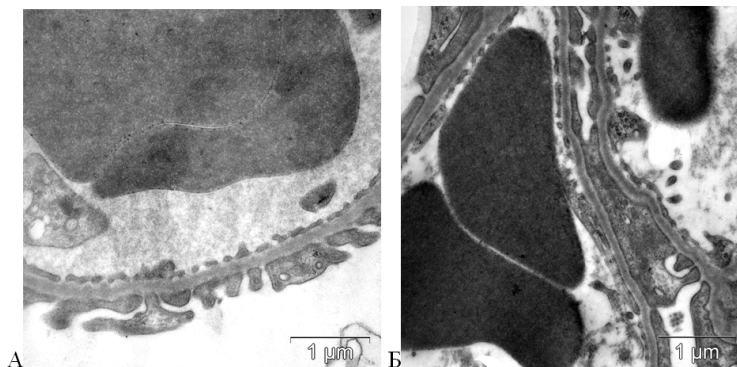


Рисунок 2 – Ультраструктура фильтрационного барьера почки мышей линии СВА контрольной группы (А) и через 30 суток опухолевого роста (Б). Снижение количества цитоподий и возрастание их толщины, уменьшение количества фенестр в условиях отдаленного опухолевого роста.

Через 30 суток эксперимента была отмечена тенденция к уменьшению толщины базальной мембраны клубочковых капилляров, а также уменьшение на 36 % количества фенестров эндотелиоцитов клубочковых капилляров (табл. 2).

Эндотелий капилляров состоит из сильно уплощенных эндотелиоцитов с фенестрами размером 0,1 мкм. Эндотелий лежит на трехслойной базальной мембране, общей для эндотелиоцитов и подоцитов. Наружный и внутренний слои в мембране светлые, а средний – темный. В темном слое находятся микрофибриллы, которые образуют сеть. Через эти ячейки в мочу могут попасть только очень мелкие белковые молекулы. Капсула клубочка образована двумя листками капсулы: париетальным и висцеральным, разделенными щелевидной полостью капсулы. Внутренний листок капсулы нефрона состоит из одного слоя подоцитов. От тела подоцитов во все стороны отходят крупные отростки цитотрабекулы, а от цитотрабекул – более мелкие отростки – цитоподии. Цитоподии прикрепляются к базальной мембране, между ними имеются фильтрационные. Эндотелий капилляров, трехслойная мембрана и мембраны между цитоподиями подоцитов образуют фильтрационный барьер, через который из плазмы крови фильтруется первичная моча. Этот фильтр пропускает воду, соли,

низкомолекулярные белки затянутые фильтрационной диафрагмой – главным компонентом барьера [11].

Таблица 2 – Результаты морфометрического исследования структурных компонентов нефрона у мышей

Параметр	Группы (M ± SD)	
	Контроль	30 суток опухолевого роста
БМ клубочковых капилляров (мкм)	0,15 ± 0,04	0,11 ± 0,03
Количество цитоподий (n)	8,17 ± 2,92	7,71 ± 310
Толщина цитоподий (мкм)	0,26 ± 0,21	0,31 ± 0,36
Фенестры эндотелиоцитов клубочковых капилляров (n)	3,62±2,42	2,33 ± 1,12*
БМ проксимального канальца (мкм)	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,03
БМ дистального канальца (мкм)	0,09 ± 0,02	0,05 ± 0,01

Примечание: Количество цитоподий и фенестров эндотелиоцитов клубочковых капилляров рассчитано на 11,2 мкм тестовой линии:

* - по отношению к группе контроля.

Клубочковой эндотелий является высоко фенестрированным, покрыт богатым гликокаликсом, участвует в свойствах просеивания клубочкового барьера фильтрации и в поддержании структуры подоцитов. Микрососудистый эндотелий в перитубулярных капиллярах, который также фенестрируется, транспортирует реабсорбированные компоненты и участвует в функции эпителиальных клеток. Эндотелий крупных и мелких сосудов поддерживает сосудистую сеть почек [12].

Фенестры представляют собой небольшие поры в эндотелии почечных клубочковых и участвуют в двунаправленном обмене молекул между кровью и тканями. Хотя десятилетия исследований характеризовали фенестры на ультраструктурном уровне, мало известно о механизмах, с помощью которых формируются фенестры [13].

Изучение базальной мембраны дистального и проксимального канальца отдела нефрона выявило уменьшение высоты эпителиоцитов дистального канальца на 44 % и проксимального канальца отдела нефрона без изменений (табл 2).

Наблюдали набухание эпителиоцитов проксимального отдела, расширение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума и снижение содержания прикрепленных рибосом. Митохондрии также имели набухший вид, с нарушением структуры матрикса и снижением содержания крист. Митохондрии являются важнейшими органеллами, которые продуцируют и доставляют аденозинтрифосфат (АТФ), необходимый для развития всех клеточных процессов. Механизмы, контролирующие биогенез, функцию и динамику митохондрий, сложны и различаются для разных типов клеток.

Заключение. Таким образом, в условиях моделирования гепатокарциномы-29 в мышечной ткани бедра экспериментальных животных в почке наблюдаются структурные изменения, свидетельствующие о нарушении функции органа. Происходит уменьшение просвета капсулы почечного тельца, снижаются размеры капиллярных клубочков, уменьшается количество фенестр в эндотелии кровеносных капилляров, происходит слияние ножек подоцитов, развиваются отек и набухание эпителиоцитов дистального и проксимального отдела нефрона.

Список литературы

- 1 Наточин А. Ю. Почему же природа выбрала калий? // Наука и жизнь. - 2019. - № 3. - С. 12-19.
- 2 Рахметова А. М., Бахбаева С. А., Досымбекова Р. С. Структурная организация нефрона в условиях отдаленного опухолевого роста // Материалы III международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых "морфологические науки - фундаментальная основа медицины" / сост. А. П. Надеев. - Новосибирск : ИПЦ НГМУ. - 2018. - С. 179-182.

- 3 Москвина Л. В., Андреева Ю. Ю., Мальков П. Г., Франк Г. А., Алексеев Б. Я., Калпинский А. С., Прядилова Е. В. Клинически значимые морфологические параметры почечно-клеточного рака // Онкология. - 2013. - № 4. - С. 34-39.
- 4 Scott RP., Quaggin SE. Review series: The cell biology of renal filtration // J Cell Biol. - 2015. Vol. 209 (2). - P. 199-210.
- 5 Sasaki T., Tsuboi N., Haruhara K., Okabayashi Y., Kanzaki G., Koike K., Kobayashi A., Yamamoto I., Ogura M., Yokoo T. Bowman Capsule Volume and Related Factors in Adults With Normal Renal Function. Kidney Int Rep. - 2017. - Vol. 3(2). - P. 314-320. doi: 10.1016/j.ekir.2017.10.007.
- 6 Pollak MR., Quaggin SE., Hoenig MP., Dworkin LD., Clin J. The glomerulus: the sphere of influence. Am Soc Nephrol. - 2014. - Vol. 9(8). - P. 1461-9. doi: 10.2215/CJN.09400913.
- 7 Al Hussain T., Al Mana H., Hussein MH., Akhtar M. Podocyte and Parietal Epithelial Cell Interactions in Health and Disease. Adv Anat Pathol. - 2017 - Vol. 24(1). - P. 24-34.
- 8 Попов С. В., Гусейнов Р. Г., Горшков А. Н., Сивак К. В., Яблонский П. К., Скрябин О. Н., Виноградова Т. И. Изменения ультраструктурной организации почки в условиях экспериментально смоделированной тепловой ишемии при оперативном вмешательстве // Вестник. СПбГУ. Сер. 11. Медицина. - 2016. - Вып. 1. - С. 104-119.
- 9 Reiser J., Altintas MM. Podocytes // F1000Res. - 2016 - Vol. 5. - P. 114.
- 10 Imasawa T., Rossignol R. Podocyte energy metabolism and glomerular diseases // Int J Biochem Cell Biol. - 2013. - Vol. 45(9). - P. 2109-2118. doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.013.
- 11 Селина И. А., Козлова В. С. Морфофункциональная характеристика почки в норме и при гломерулонефрите // Молодёжь XXI века: шаг в будущее : Материалы XVIII региональной научно-практической конференции (18 мая 2017 года) - Благовещенск : Изд-во БГПУ, - 2017. - С. 958-959
- 12 Jourde-Chiche N., Fakhouri F., Dou L., Bellien J., Burtsey S., Frimat M., Jarrot PA., Kaplanski G., Le Quintrec M., Pernin V., Rigother C., Sall'e M., Fremaux-Bacchi V., Guerrot D., Roumenina LT. Endothelium structure and function in kidney health and disease. Nat Rev Nephrol. - 2019. - Vol. 15 (2). - P. 87-108.
- 13 Ioannidou S., Deinhardt K., Miotla J., Bradley J., Cheung E., Samuelsson S., Ng YS., Shima DT. An in vitro assay reveals a role for the diaphragm protein PV-1 in endothelial fenestra morphogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. - 2006. - Vol. 103(45). - P. 16770-16775.

А.М. Рахметова¹, Н.П. Бгатова², Ш.М. Жумадина³

¹ С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

² Клиникалық және эксперименттік лимфологияның ғылыми-зерттеу институты - Федералды мемлекеттік бюджеттік ғылыми мекеменің филиалы «Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімінің цитология және генетика институтының федералдық зерттеу орталығы», Новосибир, Ресей.

³ «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» АҚ, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Қашықтағы ісіктің өсу жағдайындағы бүйректің құрылымдық ұйымдастырылуы

Аңдатпа: Экспериментте ісік моделі ретінде алынған гепатокарцинома-29 ды СВА желілі тышқандардың жамбас бұлшықеттеріне егіліп, олардың бүйрегінің құрылымдық ұйымдастырылуын байқадық. Жарық және электрондық микроскопия әдістерімен нефронның ультрақұрылымын бағаладық.

30 тәуліктен кейін бүйрек құрылымындағы ісік өсуі бар жануарларда бүйрек денешігінің саңылау капсуласының мөлшерінің азаюы, қылтамырлардың көлемдік тығыздығының төмендеуі, бүйрек денешігінің интерстициальдық кеңістігінің мөлшерінің артуы анықталды. Подоциттердің цитоплазмасының ісінуі, цитоподиялардың саны мен қалыңдығының азаюы, қылтамырлар эндотелиоциттеріндегі фенестр санының төмендеуі, бүйректің проксимальды және дистальды бөлігінің эпителиоциттерінің ісінуі байқалды. Аталған өзгерістер қашықтағы ісіктің өсу жағдайында бүйрек фильтрінің барьерлік қасиеттерінің өзгеруін куәландырады.

Түйін сөздер: бүйрек, гепатокарцинома-29, нефрон құрылымы

A. M. Rakhmetova¹, N. P. Bgatova², Sh. M. Zhumadina³

¹ Pavlodar state University. S. Toraygyrov, Pavlodar, Kazakhstan.

² Research Institute of clinical and experimental lymphology – branch of the Federal state budgetary scientific institution «Federal research center Institute of Cytology and genetics of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences», Novosibirsk, Russia,

³ joint Stock company Kazakh agrotechnical University. S. Seifullina, Nursultan, Kazakhstan

Structural organization of the kidney in conditions of distant tumor growth

Annotation: In an experiment on mice of the SBA line, the structural organization of the kidney was studied with the development of experimental hepatocarcinoma – 29 transplanted into the hip area. The nephron ultrastructure was evaluated by light and electron microscopy. After 30 days of the experiment in animals with tumor growth in the structure of the kidneys revealed a decrease in the size of the lumen of the capsule of the renal body, a decrease in the volume density of the capillary glomeruli, an increase in the size of the interstitial spaces of the renal body. Noted swelling of the cytoplasm of podocytes, reduction in the number and thickness sitapati, reducing the fenestre in endothelial cells of glomerular capillaries, swelling of epithelial cells of proximal and distal kidney. The noted changes indicate a change in the barrier properties of the renal filter in the conditions of distant tumor growth.

Keywords: kidney, hepatocarcinoma-29, nephron structure

References

- 1 Natochin A. Yu. Pochemu zhe priroda vybrala kaliy? [Why did nature choose potassium?], Nauka i zhizn, (3), 12-19 (2019) [in Russian].
- 2 Rakhmetova A. M., Bakhbayeva S. A., Dosymbekova R. S., Ctruktturnaya organizatsiya nefrona v usloviyakh otдалennogo opukholevogo rosta [Structural organization of the nephron in conditions of distant tumor growth], Materialy III mezhdunarodnoy morfologicheskoy nauchno-prakticheskoy konkurs-konferentsii studentov i molodykh uchenykh "morfologicheskkiye nauki - fundamentalnaya osnova meditsiny" / sost. A. P. Nadeyev. - Novosibirsk : IPTs NGMU, 179-182 (2018) [in Russian].
- 3 Moskvina L. V., Andreyeva Yu. Yu., Malkov P. G., Frank G. A., Alekseyev B. Ya., Kalpinskiy A. S., Pryadilova E. V. Klinicheski znachimyye morfologicheskkiye parametry pochechno-kletchnogo raka [Clinically significant morphological parameters of the renal cell Cancer], Onkologiya, (4), 34-39 (2013) [in Russian].
- 4 Scott RP., Quaggin SE. Review series: The cell biology of renal filtration, J Cell Biol, 209 (2), 199-210 (2015)
- 5 Sasaki T., Tsuboi N., Haruhara K., Okabayashi Y., Kanzaki G., Koike K., Kobayashi A., Yamamoto I., Ogura M., Yokoo T. Bowman Capsule Volume and Related Factors in Adults With Normal Renal Function, Kidney Int Rep, 3(2), 314-320 (2017) doi: 10.1016/j.ekir.2017.10.007.
- 6 Pollak MR., Quaggin SE., Hoenig MP., Dworkin LD., Clin J. The glomerulus: the sphere of influence, Am Soc Nephrol, 9(8), 1461-1469 (2014) doi: 10.2215/CJN.09400913.
- 7 Al Hussain T., Al Mana H., Hussein MH., Akhtar M. Podocyte and Parietal Epithelial Cell Interactions in Health and Disease, Adv Anat Pathol, 24(1), 24-34 (2017)
- 8 Popov S. V., Guseynov R. G., Gorshkov A. N., Sivak K. V., Yablonskiy P. K., Skryabin O. N., Vinogradova T. I. Izmeneniya ultrastrukturnoy organizatsii pochki v usloviyakh eksperimentalno smodelirovannoy teplovoi ishemii pri operativnom vmeshatelstve [Vinogradova Changes in the ultrastructural organization of the kidney under experimental conditions simulated thermal ischemia during surgery], Vestnik. SPbGU, Ser. 11. Meditsina, (1), 104-119 (2016) [in Russian].
- 9 Reiser J., Altintas MM. Podocytes, F1000Res, (5), 114 (2016)
- 10 Imasawa T., Rossignol R. Podocyte energy metabolism and glomerular diseases, Int J Biochem Cell Biol, 45(9), 2109-2118 (2013) doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.013.
- 11 Selina I. A., Kozlova V. S. Morfofunktsionalnaya kharakteristika pochki v norme i pri glomerulonefrite [Morphological and functional characteristics of the kidney are normal and with glomerulonephritis], Molodezh XXI veka: shag v budushcheye : Materialy XVIII regionalnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (18 maya 2017 goda), Blagoveshchensk : Izd-vo BGPU, 958-959 (2017) [in Russian].
- 12 Jourde-Chiche N., Fakhouri F., Dou L., Bellien J., Burtsey S., Frimat M., Jarrot PA., Kaplanski G. Le., Quintrec M., Pernin V., Rigother C., Sall'e M., Fremeaux-Bacchi V., Guerrot D., Roumenina LT. Endothelium structure and function in kidney health and disease, Nat Rev Nephrol, 15 (2), 87-108 (2019)
- 13 Ioannidou S., Deinhardt K., Miotla J., Bradley J., Cheung E., Samuelsson S., Ng YS., Shima DT. An in vitro assay reveals a role for the diaphragm protein PV-1 in endothelial fenestra morphogenesis, Proc Natl Acad Sci U S A, 103(45), 16770-16775 (2006)

Сведения об авторах

Разметова А. М. – докторант кафедры биологии и экологии по специальности 6D060700-Биология, Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова, 140013, ул. Ломова 64, Павлодар, Казахстан.

Бгатова Н. П. – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией ультраструктурных исследований НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, ул. Акад. Тимакова 2, Новосибирск, Россия.

Жумадина Ш. М. – д.б.н., профессор кафедры «Биологические науки», Казахский агротехнический университет им. С. Сейфулина, проспект Женис, 62, Нур-Султан, Казахстан.

Разметова А. М. – С. Торайгыров атындағы Павлодар мемлекеттік университетінің биология және экология кафедрасының 6D060700-Биология мамандығының докторанты. 140013, Ломов көш., 64, Павлодар, Қазақстан.

Бгатова Н. П. – б.ғ.д., профессор, клиникалық және эксперименттік лимфологияның ғылыми-зерттеу институты – Федералды мемлекеттік бюджеттік ғылыми мекеменің филиалы – Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімінің цитология және генетика институтының федералдық зерттеу орталығының, ультрақұрылымдық зерттеулер зертханасының меңгерушісі. Академика Тимакова көш., 2, Новосібір, Ресей.

Жумадина Ш. М. – «С. Сейфулин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» АҚ-ның «Биологиялық ғылымдар» кафедрасының б.ғ.д., профессор.Женис алаңы 62, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Rakhmetova A. M. – PhD student of Biology and Ecology Department in 6D060700- Biology, S. Toraighyrov Pavlodar State University, 140013, 64 Lomov street, Pavlodar, Kazakhstan.

Bgatova N.P. – Doctor of Biological Sciences, professor, head of laboratory of Ultrastructural Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology Laboratory – branch of FSBSI Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 2 Academician Timakov street, Novosibirsk, Russia.

Zhumadina Sh.M. – Doctor of Biological Sciences, professor of Biological Sciences Department, JSC S. Seifullin Kazakh Agrotechnical university, 62 Zhenis Avenue, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 15.10.2019

A. Toleuzhanova¹, A. Ubaskin¹, K. Akhmetov², N. Yerzhanov¹, A. Lunkov¹,
A. Minakov¹, T. Abylkhasanov¹

¹ *S. Toraigyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan*

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

(E-mail: kairat_akhmetov@mail.ru)

Phytoplankton of salt lakes of the Pavlodar region

Abstract: Due to the significant mineralization of water, phytoplankton of lakes in Pavlodar region is distinguished by low species richness. The species diversity of algal flora and the proportion of different halophilic groups of phytoplankton depend, among other things, on the presence of different ecotopes in reservoirs.

Keywords: artemia, phytoplankton, salt lakes, mineralization, ecotops.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-73-79>

From spring to autumn 2018, complex environmental studies were carried out in salt water bodies of Pavlodar region. This paper presents materials on the food supply of the salt-crustacean *Artemia parthenogenetica* Barigozzi, 1974, living in the waters of Northern Kazakhstan (1,2,3).

In ultrahaline lakes, due to the peculiar chemical composition of water, high mineralization (up to 340 g / l), certain trophic relationships have developed, which are unique to this type of water body. In salt ponds with a brine concentration of more than 70 g / l, there is only one representative of the consumers, which is artemia. Such lakes are characterized by an exceptionally short food chain: autotrophs and the primary single-species consumer. According to the method of feeding, artemia refers to active filter feeders, capable of passing a certain volume of water through the filtering apparatus, draining the mass of substances contained in it. The most complete food for artemia is phytoplankton. (4,5,6,7,8) The first trophic level in salt lakes is represented by primary producers (autotrophs) and this important part of the aquatic community is mainly represented by various types of phytoplankton. Available information on the state of algal flora of salt lakes (6,7,9,10,11,12,13,14) testifies that its qualitative composition is much narrower than in fresh and eugalin reservoirs. In terms of their size composition, phytoplankton belongs to nanoplankton, it has a low density in quantitative terms, however, it is highly productive in terms of physiology. (11). At the same time, the qualitative and quantitative composition of plankton autotrophs differs to a large extent in individual water bodies. Thus, in the Caspian lagoon of Kara-Bogaz-Gol, about 80 species and intraspecific taxa of algae were identified, belonging to 4 divisions in the lake Eybay, which is located to the north, 56 species were found in the lakes of Zauralye and Altai, which are even further to the north, are inhabited, respectively, only by 11 to 19 phytoplankton species. (6,7,10,11,15,16). Almost all researchers note seasonal fluctuation of phytoplankton depending on abiotic and biotic factors.

Due to the significant mineralization of water, phytoplankton of lakes in the Pavlodar region is distinguished by low species richness: 32 species and intraspecific taxa belonging to 3 divisions were found in it: Bacillariophyta (16), Cyanoprokaryota (15) and Euglenophyta (1) (table 1). Diatoms and cyanoprokaryotes reached the greatest diversity in the number of species.

Algal divisions	Classes	Orders	Families	Genera	Species	% of total species count
Bacillariophyta	1	2	4	8	16	50,0
Cyanoprocaryota	2	2	4	6	15	46,9
Euglenophyta	1	1	1	1	1	3,1
Total	4	5	5	15	32	100

Таблица 1 – The ratio of the main systematic groups of algal flora of the lakes under study

The results of the analysis of the taxonomy of the matrix of the investigated lakes show that 32 species of waterways, belong to 15 genera, 5 families, 5 orders and 3 divisions. The algae that belong to the diatoms division, differ in species diversity, their number of species makes half the taxonomic list (16 species or 50%). Cyanoprocaryotes are represented by 15 species and varieties (46.9%) and occupy the second place due to divergence. The representatives of the Euglenians occupy the third place according to the diversity - 1 species (3.1%).

All three divisions are represented in a Saubaisor lake: a division of Bacillariophyta - 3 species, Cyanoprocaryota is represented by 3 species and one species of *Euglena mutabilis* Schmitz. related to Euglenophyta.

Two divisions of Bacillariophyta and Cyanoprocaryota are represented in lakes:

- the phytoplankton of Lake Kazi is represented by 6 species and varieties of Cyanoprocaryota and 11 species of Bacillariophyta.
- the phytoplankton of Lake Seiten is represented by 7 species and varieties of Cyanoprocaryota and 2 species of Bacillariophyta.
- 6 cyanoprocaryotes and 1 species of diatoms found in Lake Koksor.
- 4 representatives of the Cyanoprocaryota and 2 species of Bacillariophyta were found in Lake Ashitakyr.
- in the lake Kalcha, the divisions are represented by 1 species of *Microcystis aeruginosa* f.flos-aquae (Wittr.) Kirchn. (Cyanoprocaryota) and *Navicula longirostris* Hust. (Bacillariophyta)

Representatives of only one division of Cyanoprocaryota were found in lakes: 2 species each in lakes - Kyzyltuz, Akkulinsky District, Maliy Kossor, Zhamantuz; 3 types of cyanoprocaryotes in the lakes of Balkashsor, Bulaktysor, Muzdykol, Karakaska; 4 types of cyanoprocaryotes are found in the Bolshoy Kossor lakes (Kyzyltuz (Zhelezinsky district).

According to the salinity of water they live in, there are 5 groups of algae; 6 species and varieties or 18.7% are freshwater inhabitants (FW), freshwater-brackish water (FW-BW) - 6 or 18.7%, brakish water (BW) - 18 or 56.4 %, brakish water-freshwater (BW-FW) - 1 or 3.1%, brakish water-seawater (BW-SW) - 1 species or 3.1% (Figure 1).

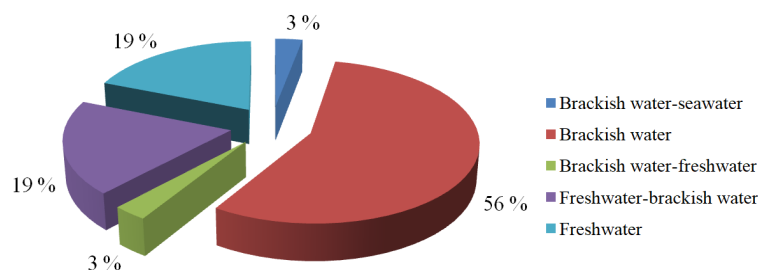


Рисунок 1 – Distribution of algae in the investigated lakes in relation to water salinity

Environmental analysis of algae divisions of investigated reservoirs shows that 11 species are brakish water, 3 are freshwater-brakish water, 1 species of both brakish water-freshwater and brakish water-seawater, out of 16 species of Bacillariophyta (Table 2).

Of the 15 species and varieties of algae of the Cyanoprocaryota: 7 are brakish water, 6 are freshwater and 2 are freshwater-brakish water.

1 species of the Euglenophyta division - *Euglena mutabilis* Schmitz. refers to freshwater-brakish water.

Algae division	FW	FW-BW	BW-FW	BW	BW-SW
Bacillariophyta	-	3	1	11	1
Cyanoprocaryota	6	2	-	7	-
Euglenophyta	-	1	-	-	-
Total	6	6	1	18	1

Таблица 2 – Ecological distribution of the total number of species with respect to water salinity

Ecological distribution of algae in relation to the saltiness, in the studied lakes are presented in table 3.

Lake	Salinity, g / l		Species in to- tal	FW	FW- BW	BW- FW	BW	BW- SW
	during the col- lection period	during the season						
Spring collection								
Malyi Kossor	60	60-180	2	-	-	-	2	-
Bolshoi Kossor	100	73-199	4	1	-	-	3	-
Koksor	110	98-305	7	3	-	-	4	-
Saubaisor	110	102- 193	7	2	3	1	1	-
Balkashsor	141	133- 141	3	1	1	-	1	-
Bulaktysor	190	172- 177	3	1	1	-	1	-
Muzdykol	210	200- 319	3	-	1	-	2	-
Kyzyltuz*	210	207- 369	4	-	1	-	3	-
Autumn collection								
Ashytakyr	72	72-85	6	3	-	1	2	-
Seiten	140	115- 124	9	3	1		5	-
Kalcha	160	87-136	2	1			1	-
Kazy	210	179- 221	17	-	2	1	13	1
Kyzyltuz**	260	239- 282	2	-	-	-	2	-
Karakaska	310	243- 257	3	-	1	-	2	
Zhamantuz	310	331- 338	2	-	-	-	2	

Note: *-Zhelezinsky district; **- Akkulinsky district

Table 3 – Ecological distribution of algae in relation to the salinity in the lakes under study

Considering that salinity plays a primary role in the amount of the species composition of the algal flora of water bodies, photosynthetic activity, productivity, it is natural to assume that there is a high degree of correlation between the salinity indicators and the number of phytoplankton species. However, for the lakes we studied, the Pearson correlation coefficient turned out to be low and amounted to minus 0.14. ($p > 0.1$).

In our opinion, this depends on the presence of peculiar ecotops in salt water bodies with different mineralization of water and, of course, with various phytoplankton representatives.

Reservoirs with the presence of such ecotops are characterized by the spatial separation of individuals of a single gene pool, which contributes to the deployment of potential features of aquatic organisms in a variety of habitats, accompanied by variability on a number of grounds, and the environmental conditions do not go beyond their reaction norms. Thus, the lake population of *Artemia* was previously described (1) with groups of phenotypes sharply distinguished by their appearance, which are located in different ecotops of the reservoir. With a practically similar size of body, individuals of different groups significantly differed in the length of the abdomen, the C:A ratio, and especially in the biometric parameters of the furca. The length of the furcal ramus of *Artemia* living in a desalinated ecotope was 6 times longer than that of the individuals from the main lake and 3 times longer than the width and number of setae.

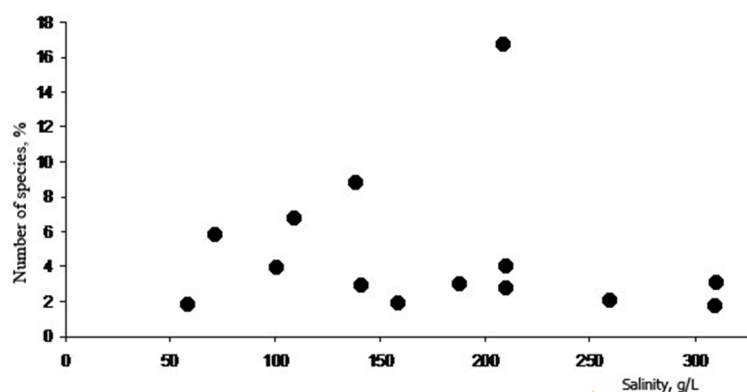


РИСУНОК 2 – Relationship of the number of phytoplankton species and water salinity

The presence of various ecotops in the studied water bodies also links the weak relationship between salinity and the proportion of salt-loving (halophilic) species (Figure 3). In general, the ecological analysis of algae in the studied lakes shows that with increasing water salinity, the proportion of freshwater brackish-water and brackish-water species increases (Pearson's correlation coefficient $r = 0.30$, Significance level for a one-sided criterion > 0.1).

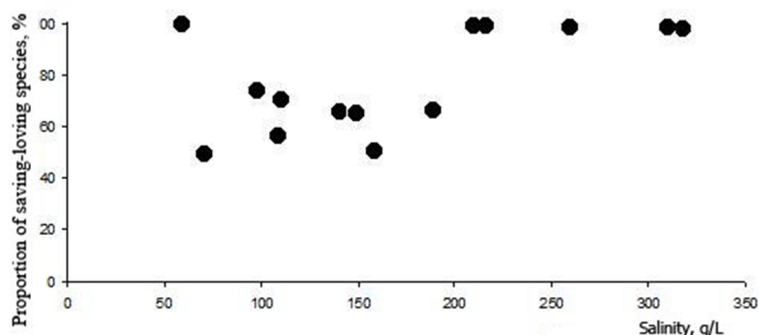


РИСУНОК 3 – Relationship of the proportion of salt-loving (halophilic) species and salinity

Ecological factors influence the formation of such ecological clusters (ecologic algosenoses), as phytoplankton, epiphytes, littoral species.

In the lakes under study, planktonic algae go up to 17 species and varieties. There are 12 littoral species and varieties, these include algae: *Amphora perpusilla* Grun., *Scoliopleura peisonis* Grun., *Navicula Komarovii* Poretzky, *Navicula longirostris* Hust., *Nitzschia vivax* var. *hyperborea* Grun., *Fragilaria pinnata* Ehr., *Fragilaria virescens* var. *subsalina* Grun., *Nitzschia punctata* var. *aralensis* Borszczow, *Nitzschia hungarica* Grun., *Navicula peregrina* (Ehr.) Skv., *Navicula peregrina* var. *hankensis* Skv., *Synedra pulchella* var. *naviculacea* Grun. Epiphytic forms: in the lakes studied,

there are 3 types and varieties of epiphytic algae: *Synedra tabulata* var. *fasciculata* (Kutz.) Grun., *Cocconeis placentula* Ehr. and *Cocconeis scutallum* Ehr. The ecological structure of the algal flora of the lakes under study is determined mainly by the ratio of the two main groups - planktonic (17) and littoral (12) species of algae.

The research is carried out under the scope of the project of State Institution "Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan" № AP05132859.

References

- 1 Убаскин А.В. Морфометрические особенности и изменчивость артемии в соляных озерах Павлодарской области // Биологические науки Казахстана. Павлодар. ПГПИ. - 2005. - № 1. - С.103-110.
- 2 Убаскин А.В. Эколого-биологические особенности рачка *Artemia* (Anostraca, Crustacea) соленых озер Павлодарской области (Республика Казахстан): Автореф. дис. . канд. биол. наук. Омск. - 2005. - С. 20.
- 3 Вольф Л. А. Экологические особенности жаброногого рачка (*Artemia parthenogenetica* Barigozzi, 1974) в соленых водоемах Северного Казахстана: Автореф. дис. канд. биол. наук. Омск. - 2011. - С. 18.
- 4 Блюмина Л.С. Водоросли соленых Соль-Илецких озер // Бот. журн. - 1957. - Т. 42, №6. - С. 912-916.
- 5 Анферова Л.В. Рачок артемия салина - носитель природных соединений, синтезирующих органические вещества в лечебных грязях озера Карачи // Грязи и их лечебное применение. - Киев. - 1969. - С. 43-44.
- 6 Литвиненко Л.И., Черняк М.А. Фитопланктон озера Медвежье // Озеро Медвежье. Биол. продуктивность и комплекс. использ. природн. ресурсов гипергалинного озера. - Тюмень. - 2001. - С. 33-36.
- 7 Булатов С.А. Особенности экологии артемии ультрагалинного залива Кара-Богаз-Гол и некоторые аспекты ее питания в естественных условиях // Биоразнообразие артемии в странах СНГ: Совр. состояние ее запасов и их использование. Междунар. науч.-иссл. семинар. - Тюмень. - 2002. - С. 94-104.
- 8 Булатов С.А., Шакирова Ф.М. К биологии и экологии артемии залива Кара-Богаз-Гол // Мат. междуна. конф. посвящ. соврем. проблемам рыб. хоз. Каспийского моря. - Баку. - 2002. - С. 44.
- 9 Дексбах Н.К. *Artemia salina* (L.) var. *mulhausseni* (Fischer) в лечебном озере грязевого курорта Карачи, Западная Сибирь // Науч. докл. высш. шк. Сер. Биол. Науки. - 1962. - Т. 1. - С. 9-11.
- 10 Соловов В.П., Студеникина Т.Л. Рачок артемия в озерах Западной Сибири. - Новосибирск. - 1990. - С. 80.
- 11 Литвиненко Л. И. Жаброногие рачки рода *Artemia* Leach, 1819 в гипергалинных водоемах Западной Сибири (география, биоразнообразие, экология, биология и практическое использование) : автореф. дис. . докт. биол. наук. Пермь. - 2008. - С. 40.
- 12 Толеужанова А.Т. Диатомовые водоросли озер Таволжан и Мойылды Кулундинской равнины // Вестник ПГУ им. С. Торайгырова, серия химико-биологическая. - Павлодар. - 2012. - №2. - С. 121-127.
- 13 Толеужанова А.Т. Анализ флоры водорослей водоемов Кулундинской равнины по отношению к солености воды // "Биологические науки Казахстана" Павлодарский государственный педагогический институт. Раздел Экология. - Павлодар. - 2012. - №4. - С. 169-179.
- 14 Толеужанова А.Т. Фитопланктон озера Большой Таволжан Кулундинской равнины // Поиск. Серия естественных и технических наук. Научный журнал Министерства образования и науки, Алматы. - 2011. - №3. - С.32-35.
- 15 Gou Yan. Studies on ecology and biology of *Artemia* in Aibi Lake of. - Xinjiang. China. - 1992. - P. 94.
- 16 Пермякова Г. В. Жаброногий рачок *Artemia* Leach, 1819 в гипергалинных озерах Алтая (на примере озера Большое Яровое) // Автореф. диссертации на соискание ученой степени к. б. н., Новосибирск. - 2012. - С. 22.

А. Толеужанова¹, А. Убаскин¹, К. Ахметов², Н. Ержанов¹, А. Луньков¹, А. Минаков¹, Т. Абылхасымов¹

¹ Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан

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

Фитопланктон соленых озер Павлодарской области

Аннотация. Вследствие значительной минерализации воды фитопланктон озер Павлодарской области отличается невысоким видовым богатством. Видовое разнообразие альгофлоры и доля различных галофильных групп фитопланктона зависят в том числе и от наличия в водоеме различных экотопов.

Ключевые слова: артемия, фитопланктон, соленые озера, минерализация, экотопы

А. Толеужанова¹, А. Убаскин¹, К. Ахметов², Н. Ержанов¹, А. Луньков¹, А. Минаков¹, Т. Абылхасымов¹

¹ С. Торайгыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан

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

Павлодар облысы тұзды көлдерінің фитопланктоны

Аңдатпа: Судың едәуір минералдануы салдарынан Павлодар облысы көлдерінің фитопланктоны аз көлемді түр байлығымен ерекшеленеді. Альгофлораның түрлік әртүрлілігі және фитопланктонның түрлі галофильді топтарының үлесі су айдынында әртүрлі экотоптардың болуына тәуелді.

Түйін сөздер: артемия, фитопланктон, тұзды көлдер, минералдану, экотоптар

References

- 1 Ubaskin A. V. Morfometricheskije osobennosti i izmenchivost' artemiji v soljanykh ozjorakh pavlodarskoi oblasti [Morphometric features and variability of Artemia in salt lakes of Pavlodar region]. Biologicheskije nauki Kazakhstana [Biological sciences of Kazakhstan]. Pavlodar, 103-110 (2005)
- 2 Ubaskin A. V. Ekologo-biologicheskije osobennosti rachka Artemia (Anostraca, Crustacea) soljonykh ozjor Pavlodarskoj oblasti (Respublika Kazakhstan). PhD diss. [Ecological and biological features of Artemia (Anostraca, Crustacea) of salt lakes of Pavlodar region (Republic of Kazakhstan). PhD thesis]. Omsk, 20 (2005).
- 3 Volf L. A. Ekologicheskije osobennosti zhabronogogo rachka (Artemia parthenogenetica Barigozzi, 1974) v soljonykh vodojomakh Severnogo Kazakhstan. PhD diss. [Ecological features of the crustacean (Artemia parthenogenetica Barigozzi, 1974) in salt ponds of Northern Kazakhstan. PhD thesis]. Omsk, 18 (2011).
- 4 Blyumina L. S. Vodorosli soljonykh Sol'-Iletsikh ozjor [Algae of salt lakes of Sol-Iletsk]. Botanicheskij zhurnal [Botanical journal], 42 (6), 912-916 (1957). [in Russian]
- 5 Anferova L.V. Rachok artemija salina - nositel' prirodnykh sojedinenij, sintezirujuschikh organicheskije veschestva v lechebnykh grjazjakh ozera Karachi [Artemia salina - a carrier of natural compounds that synthesize organic matter in the therapeutic mud of Lake Karachi], Grjazi i ikh lechebnoje primenenije [Mud and its therapeutic use] (Kiev, 1969).
- 6 Litvinenko L. I., Chernyak M. A. Fitoplankton ozera Medvezhje [Phytoplankton of Lake Medvezhje]. Ozero Medvezhje. Biologicheskaja produktivnost' i kompleksnoje ispol'zovannije prirodnykh resursov gipergalinnogo ozera [Medvezhje Lake. Biological productivity and complex use of natural resources of the hypergalin lake]. Tyumen, 33-36 (2011).
- 7 Bulatov S. A. Ossobennosti ekologii artemii ul'tragalinnogo zaliva Kara-Bogaz-Gol i nekotoryje aspekty jejo pitanija v jestestvennykh uslovijakh [Peculiarities of the ecology of Artemia of ultrahaline lagoon Kara-Bogaz-Gol and some aspects of its nutrition in natural conditions]. Bioraznoobrazije artemiji v stranakh SNG: Sovremennoje sostojanije jejo zapasov i ikh ispol'zovanije [Biodiversity of Artemia in the CIS countries: The modern state of reserves and their use. International scientific research seminar]. Tyumen, 94-104 (2002).
- 8 Bulatov S. A., Shakirova F. M. K biologiji i ekologiji artemiji zaliva Kara-Bogaz-Gol [Biological and ecological features of artemia of Kara-Bogaz-Gol lagoon]. Materialy mezhdunarodnoj konferentsiji posvjaschennoi sovremennym problemam rybnogo khozjajstva Kaspijskogo morja [International conference dedicated to contemporary problems of the Caspian Sea fisheries]. Baku, 44 (2002).
- 9 Deksbakh N. K. Artemia salina (L.) var. mulhaussenii (Fischer) v lechebnoe ozere grjazevoego kurorta Karachi, Zpadnaja Sibir' [Artemia salina (L.) var. mulhaussenii (Fischer) in the therapeutic lake of the mud resort of Karachi, Western Siberia], Nauchnye doklady vysshej shkoly. Serija Biologicheskije Nauki [Scientific reports of higher education institutions. Biological Sciences] 1, 9-11 (1962). [in Russian]
- 10 Solovov V. P., Studenikina T. L. Rachok artemija v ozerakh Zapadnoi Sibiri [Artemia of Western Siberia Lakes]. Novosibirsk, 80 (1990).
- 11 Litvinenko L. I. Zhabronogije rachki roda Artemia Leach, 1819 v gipergalinnnykh vodojomakh Zapadnoi Sibiri (geografija, bioraznoobrazije, ekologija, biologija i praktičeskoje ispol'zovannije). PhD diss. [Branchiopods of the genus Artemia Leach, 1819 in the hypergalin reservoirs of Western Siberia (geography, biodiversity, ecology, biology, and practical use). PhD thesis]. Perm, 40 (2008).
- 12 Toleuzhanova A. T. Diatomovyje vodorosli ozjor Tavolzhan i Mojyldy Kulundinskoj ravniny [Diatoms of the lakes Tavolzhan and Moyilyd of the Kulundinskaya Plain], Vestnik PGU im. S. Torajgyrova, serija khimiko-biologicheskaja [Bulletin of S. Torajgyrov Pavlodar State University. Biology and chemistry], (2), 121-127 (2012). [in Russian]
- 13 Toleuzhanova A. T. Analiz flory vodoroslej vodojomov Kulundinskoj ravniny po otnosheniju k soljonosti vody [Analysis of the flora of water bodies of the Kulundinsky valley in relation to the salinity of the water], "Biologicheskije nauki Kazakhstana" Pavlodarskij gosudarstvennyj pedagogičeskij institut. Razdel Ekologija ["Biological Sciences of Kazakhstan" Pavlodar state pedagogical institute. Ecology], (4), 169-179 (2012). [in Russian]
- 14 Toleuzhanova A. T. Fitoplankton ozera Bol'shoj Tavolzhan Kulundinskoj ravniny [Phytoplankton of the Bolshoy Tavolzhan Lake of the Kulunda Plain], Poisk. Serija jestestvennykh i tekhnicheskikh nauk. Nauchnyj zhurnal ministerstva obrazovanija i nauki [Poisk. Natural and technical sciences. Scientific Journal of the Ministry of Education and Science], (3), 32-35 (2011). [in Russian]
- 15 Gou Yan. Studies on ecology and biology of Artemia in Aibi Lake of. - Xinjiang. China, 94 (1992).
- 16 Permyakova G. V. Zhabronogij rachok Artemia Leach, 1819 v gipergalinnnykh ozerakh Altaja (na primere ozera Bol'shoje Jarovoye). PhD diss. [Brine shrimp Artemia Leach, 1819 in the hypergalin lakes of Altai (by the example of Lake Bolshoi Jarovoye). PhD thesis] Novosibirsk, 22 (2012).

About authors:

Toleuzhanova A. T. – candidate of biological sciences, associate professor of department of Biology and Ecology, S. Torajgyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Ubaskin A. V. – candidate of biological sciences, associate professor of department of Biology and Ecology, S. Torajgyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Akhmetov K. I. – master of biology, PhD student, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Yerzhanov N. T. – doctor of biological sciences, professor of department of Biology and Ecology, S. Torajgyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Lunkov A. I. – engineer, S. Toraighyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Minakov A. G. – engineer, S. Toraighyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Abylkhasanov T. Zh. – master of biology, senior lecturer of department of Biology and Ecology, S. Toraighyrov Pavlodar State University, Pavlodar, Kazakhstan.

Толеужанова А. Т. – биология ғылымдарының кандидаты, «Биология және экология» кафедрасының қауымдастырылған профессоры, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Убаскин А. В. – биология ғылымдарының кандидаты, «Биология және экология» кафедрасының қауымдастырылған профессоры, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Ахметов К. И. – биология магистрі, PhD докторанты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан.

Ержанов Н. Т. – биология ғылымдарының докторы, «Биология және экология» профессоры, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Луньков А. И. – инженер, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Минаков А. Г. – инженер, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Абылхасанов Т. Ж. – биология магистрі, «Биология және экология» кафедрасының аға оқытушысы С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан.

Received 25.09.2019

А.А.Сапарбекова¹, А.С.Латиф¹, З.Р.Ахмедова²¹ Южно-Казахстанский государственный Университет им.М.Ауэзова, Шымкент, Казахстан² Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан
(E-mail: latif-aziz@mail.ru, almira.saparbekova@mail.ru, b_g_r@mail.ru)**Исследование антибактериальной активности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12**

Аннотация: Проблема лечения и профилактики острых кишечных инфекций стоит остро во всех странах без исключения. Выделенный из сока граната, произрастающего в Туркестанской области, штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявляет особенности пробиотической культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Исследование антагонистических способностей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проводили с условно-патогенными или патогенными бактериями *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* как наиболее распространенными бактериями, связанными с диарейными состояниями. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявил отчетливое ингибирующее отношение к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Доказано, что антагонистическая активность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 против человеческих патогенов обусловлена снижением бактериального роста за счет прилипания бактерий к стенкам дрожжевых клеток.

Пробиотические дрожжевые культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 могут быть использованы в качестве профилактического и терапевтического средства для лечения различных диарейных заболеваний.

Ключевые слова: дрожжи, *Saccharomyces cerevisiae*, пробиотики, антагонизм, условно-патогенные или патогенные бактерии.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-80-89>

1. Введение. Острые кишечные инфекции (ОКИ) - это большая группа инфекционных заболеваний, вызванных различными микроорганизмами (бактерии и вирусы), объединенных сходным характером клинических проявлений в виде дисфункции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и симптомами внекишечных расстройств. Актуальность этой проблемы доказывают следующие цифры: ежедневная заболеваемость составляет 11-12 миллионов человек, за год регистрируется до 4 миллиардов случаев (по данным ВОЗ). Диарея является главной причиной детской смертности в мире - это около 2 миллионов случаев в год, а ежедневно - почти 7 тысяч, в основном это случается в странах Африки, Азии, Латинской Америки. Размах заболевания влечет огромные экономические потери и, что самое страшное, человеческие потери [1].

Согласно определению ФАО/ВОЗ, пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, которые при введении в достаточных количествах приносят пользу здоровью хозяину [2]. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* - единственные известные дрожжи с клиническими эффектами и единственный дрожжевой препарат с доказанной эффективностью пробиотиков в проведенных независимых исследованиях [3]. Пробиотические дрожжевые культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* используются в качестве профилактического и терапевтического средства для лечения различных диарейных заболеваний [4]. Наиболее распространенными условно патогенными и патогенными бактериями, связанными с диарейными состояниями, являются *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. и *Clostridium perfringens* [4-6].

Выраженная эффективность *S. cerevisiae* var. *boulardii* против кишечных патогенов связана с различными механизмами, такими как снижение бактериальной обсемененности кишечника и нейтрализация бактериальных токсинов [4, 7]. В случае многих расстройств кишечника, адгезия патогенов к эпителиальным клеткам является начальной предпосылкой для развития

инфекции в кишечнике. Была исследована способность *S. cerevisiae* var. *boulardii* связывать клеточной поверхностью *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* [8, 9]. По-видимому, связывающая способность *S. cerevisiae* var. *boulardii* может быть универсальным способом его пробиотической активности против патогенов человека. Исследование проводилось для *S. cerevisiae* var. *boulardii*, взятых из исследуемых образцов, разработанных для профилактики и лечения диареи, для проверки их действия против широкого спектра патогенных и условно патогенных бактерий. Сокращение числа жизнеспособных и активных клеток этих бактерий может привести к ограничению их активности, которая может оказывать профилактическое или поддерживающее влияние при диарее различной этиологии.

Одной из гипотез, предложенных для объяснения пробиотической активности *S. cerevisiae* var. *boulardii* против энтеропатогенных микроорганизмов является антагонизм путем образования ингибирующих соединений [3,10-13]. Однако есть только несколько исследований, которые показали, что эти дрожжи ингибируют рост различных бактерий. Это влияние было продемонстрировано для *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, и *Escherichia coli* [13, 14]. Кроме того, Борнет и Бергонь-Березин [15] сообщают об уменьшении количества бактерий *P. aeruginosa* и *S. aureus* в присутствии *S. cerevisiae* var. *boulardii* в диетических смесях, предназначенных для энтерального питания у пациентов интенсивной терапии. Аналогично, Zbinden et al. [16] показали снижение числа клеток *S. typhimurium* через 5 ч в присутствии *S. cerevisiae* var. *boulardii*. Исследования in vivo показывают, что защитный рефлекс от *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* и *Clostridium difficile*, обнаруженный у мышей, использовавших пищу, ранее обработанную дрожжами, не связан с уменьшением общей популяции бактерий в кишечнике [17, 18]. Существуют и другие свойства, которые могли бы объяснить защитный эффект против энтеропатогенных бактерий, таких как иммуномодуляция, модуляция продуцирования веществ, обладающих антитоксичным воздействием [3,7,8,19].

2. Материалы и методы

Среда YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) применяется для культивирования дрожжей *S.cerevisiae*; данная среда богата питательными веществами, аминокислотами, витаминами, минеральными веществами, повышенное содержание пептона, декстрозы (таблица 1), как дополнительный источник углеводов, и дрожжевого экстракта обеспечивает быстрый рост биомассы;

Таблица 1 - Среда YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose)

Питательные вещества	Содержание, г/л
Пептон	20,0
Дрожжевой экстракт	10,0
Декстроза	20,0
Бактериологический агар	15,0
pH	6,5 ± 0,2

Среда YPD, применяемая для культивирования дрожжей, содержит глюкозу, соли и белки, необходимые для быстрого роста *Saccharomyces cerevisiae*; пептон обеспечивает азот, минералы и аминокислоты, необходимые для роста *Saccharomyces cerevisiae*; дрожжевой экстракт является источником витаминов, особенно В-группы; бактериологический агар является желеобразующим агентом.

Приготовление: растворите 65 г сухого препарата в 1 л дистиллированной воды, нагрейте до полного растворения, стерилизуйте в автоклаве 15 мин при 121 °С, храните при 8-15 °С.

В нашем исследовании штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 выращивали на агаризованном пептоно-декстрозном дрожжевом экстракте при комнатной температуре. Исследование антагонистических способностей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проводили со следующими условно-патогенными или патогенными бактериями: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*.

Антибактериальная активность дрожжей была исследована на среде YPD с использованием метода агаровой плиты [9]. Это метод, основанный на наблюдении параллельного роста штаммов: индикаторного и антагонистического. Агарные выемки диаметром 14 мм были асептически вырезаны из агара с YPD, заросшего газоном. *S. cerevisiae* Az-12 инкубировали в течение 48 ч при 37 °С. В выемки с агаровой средой инокулировали индикаторный штамм (105-106 КОЕ/мл). После 18 ч инкубации измеряли диаметры зон ингибирования роста вокруг агаровых плит. Результаты в мм, за вычетом диаметра агаровой плиты. Для совместного культивирования дрожжей и условно патогенных и патогенных микроорганизмов использовалась модифицированная среда, близкая по содержанию и консистенции к среде кишечника.

Модифицированная среда состояла из следующих компонентов (в г / л дистиллированной воды): крахмал 5,0, пектин 2,0, гуаровая камедь 1,0, ксилан 2,0, арабиногалактан 2,0, инулин 1,0, казеин 3,0, пептон 3,33, триптон 5,0, рафиноза 10,0, соли желчных кислот - 0,4, дрожжевого экстракта - 4,5, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,005, $NaCl$ - 6,16, KCl - 4,5, KH_2PO_4 - 0,5, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 1,25, $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ - 0,15, $NaHCO_3$ - 1,5, цистеин - 0,8, хемин - 0,05; pH довели до 6,2.

Анализ роста дрожжей и бактерий осуществлялся с начальной инокуляцией 105 КОЕ/мл, инкубация проводилась при 37 °С в анаэробных условиях. Количество микроорганизмов оценивали методом подсчета каждые 4 часа в первый день, затем через 8 часов инкубации. Для дрожжей значения КОЕ/мл определяли путем нанесения соответствующих разведений в агаровую среду YPD с добавлением гентамицина (40 мг/100 мл) и для бактерий путем нанесения на питательный агар. В качестве индикаторных микроорганизмов использовались патогенные или условно патогенные бактерии человека: *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

3. Результаты и обсуждение

Из 180 различных видов дрожжей сахаромисетов, выделенных из растительного сырья, произрастающего в Туркестанской области, большинство относятся к *Saccharomyces* - 159.

Наибольшую активность в сбраживании фруктовых соков показал *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, выделенный из граната. Важнейшими факторами выбора данного микроорганизма также являлись высокие органолептические показатели сброженного им сока, включающие: естественный фруктовый аромат, без посторонних для данного фрукта запахов, приятный слабо кислый вкус, без визуального появления мутности или значительного осадка.

Saccharomyces cerevisiae Az-12 является факультативным аэробом, легко сбраживает глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, мальтотриозу, не использует галактозу, в небольшом количестве потребляет пентозы — арабинозу, ксилозу и рибозу, а также в качестве источника углерода может использовать многие простые соединения, в частности, глицерин, в результате сбраживания сахаров образует CO_2 и этиловый спирт. Оптимальный температурный режим $37 \pm 1^\circ$, что близко к температуре человеческого организма. Клетки растут в пределах от 5 °С до 45 °С. Оптимальное значение pH среды - 3,5-5,5. Сохраняет жизнеспособность в диапазоне pH от 1,2 до 10. Растет при содержании желчи в среде до 3,0%.

Колонии *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 на солодовом сусле - агаре-небольшие, гладкие, выпуклые, с ровными краями.



Рисунок 1 – Колонии *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 на солодовом сусле-агаре

Средний размер клеток составляет $5,0 \times 6,4$ мкм. Форма клеток в основном округлая. Размножается почкованием. Не образует спор.

По многим перечисленным параметрам данный штамм *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявляет особенности пробиотической культуры *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Для возможности использования данного штамма в производстве пробиотических, функциональных продуктов исследованы их антагонистические способности к патогенным и условно патогенным микроорганизмам.

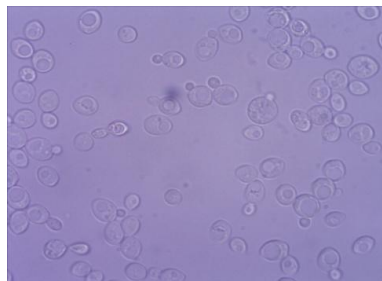


Рисунок 2 – Микроскопирование клеток *Saccharomyces cerevisiae* Az-12

Проявление антагонистической способности пробиотических дрожжей на патогенах человека подтверждается путем маркировки зон ингибирования роста бактерий с использованием метода агаровой плиты. Четкий антагонизм дрожжей против бактерий был подтвержден только для *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Последовательные результаты были получены для штамма *S. cerevisiae* Az-12, выделенного из сока граната, произрастающего в Туркестанской области. Зоны ингибирования равны ($12,8 \pm 0,05$) для *Escherichia coli*; ($13,5 \pm 0,05$) мм для *Staphylococcus aureus* и ($10,7 \pm 0,05$) для *Pseudomonas aeruginosa*.

К *Enterococcus faecalis* дрожжи не проявили антагонистическую активность. Испытуемые бактериальные штаммы *Salmonella typhimurium* проявляли незначительные зоны ингибирования роста вокруг агаровых плит с *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, зона ингибирования ($1,1 \pm 0,05$).

Дальнейшие исследования выполнялись на определение влияния пробиотических дрожжей *S. cerevisiae* Az-12 на патогенные или условно патогенные бактерии человека: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* и *Staphylococcus aureus*. Анализы проводили параллельно с использованием монокультуры все перечисленных микроорганизмов и при их совместном культивировании с *Saccharomyces cerevisiae* Az-12. Монокультура *Staphylococcus aureus* быстро развивается в модифицированной среде и в первые 8 часов количество возрастает почти в 1,4 раза.

Пробиотические дрожжи активно влияли на рост *Staphylococcus aureus*. Во время процесса совместного культивирования количество клеток *aureus* меньше на 1,7 log единицы, чем в монокультуре после 8 часов совместного культивирования с пробиотической культурой. В дальнейшем наблюдается также постепенное снижение количества *S. aureus*, на вторые сутки их количество ниже на 3-5,5 log единицы, чем в монокультуре. Кривая роста *S. aureus*, выращенная с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, представлена (рис.3).

Максимальный прирост культуры *Escherichia coli* наблюдается через 32 часа. При совместном культивировании с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 благодаря их антагонистическим способностям происходит значительное снижение количества жизнеспособных клеток *Escherichia coli* на 5-6 log единиц, что позволяет предположить о значительном подавляющем воздействии пробиотических дрожжей на *Escherichia coli*. Однако необходимо отметить и отрицательное воздействие *Escherichia coli* на развитие *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, так по сравнению с монокультурой их количество снижено в смешанной культуре более чем в 1,5 - 2 раза.

Кривая роста *E. coli*, выращенная с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, представлена (рис.4).

В случае исследования совместного культивирования штаммов *Pseudomonas aeruginosa* снижение количества бактериальных клеток наблюдалось в смешанных культурах с

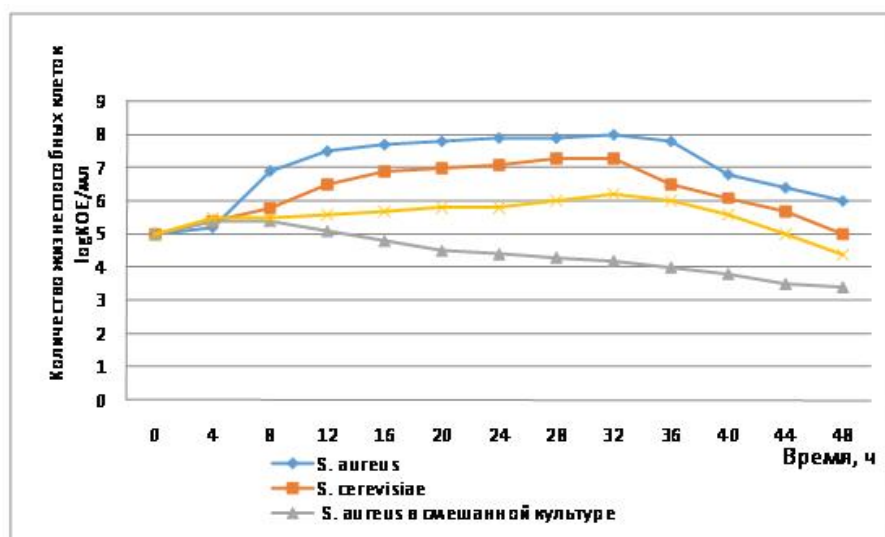


Рисунок 3 – Рост монокультур *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

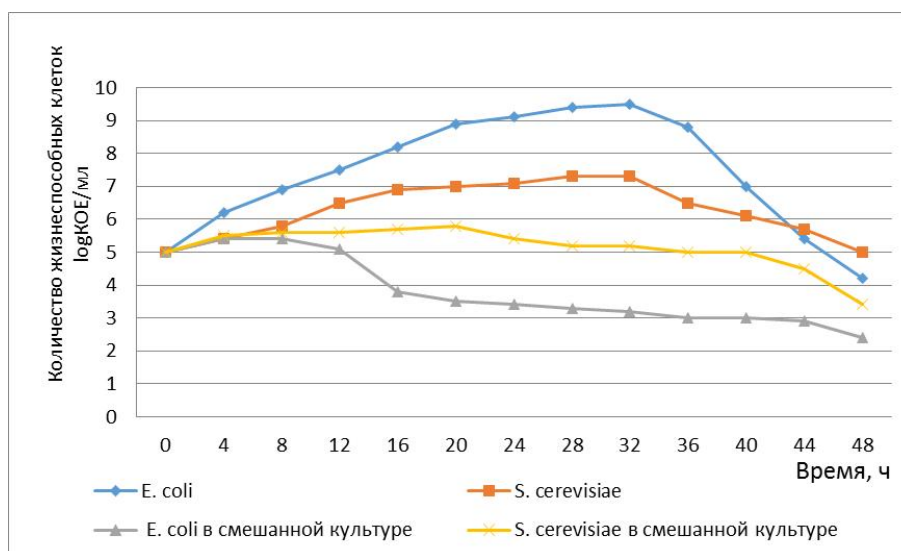


Рисунок 4 – Рост монокультур *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

пробиотическими дрожжами *S. cerevisiae* Az-12, однако не так ярко выражена как у *S. aureus* и *E. Coli*, что показано на рисунке 5.

В смешанных культурах с пробиотическими дрожжами по сравнению с соответствующими бактериальными монокультурами снижение составляло, соответственно, в первые 12 часов на 18,9%, и с дальнейшим снижением до 41,8% в последующие 24 часа, и эти сокращения были статистически значимыми.

Кривая роста остальных дрожжевых штаммов имела аналогичный ход. Влияние пробиотических дрожжей также было связано с изменением экспоненциальных скоростей роста, временем, в течение которого культуры достигли максимальных темпов роста и продолжительности фазы лаг.

Необходимо отметить незначительный рост в первые часы *E. faecalis* и *S. Typhimurium* в смешанных культурах с *S. cerevisiae* Az-12. Увеличение темпа роста по сравнению с бактериальными монокультурами от 1,4% для *S. Typhimurium*, 1,6% для *E. faecalis* в присутствии дрожжей, по-видимому, связано с дополнительными питательными веществами, которые образуются в метаболических процессах дрожжей.

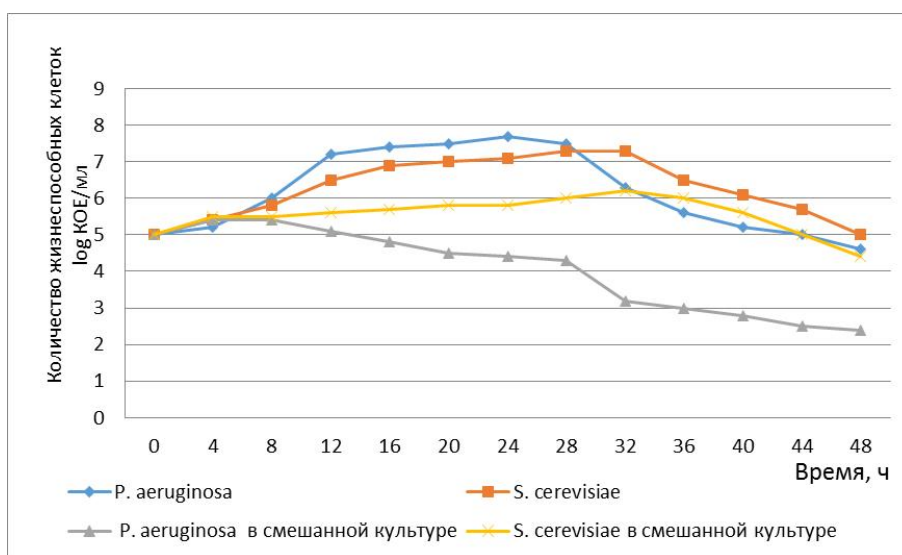


Рисунок 5 – Рост монокультур *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 и их рост при совместном культивировании

Установленная нами антагонистическая активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, выделенных из граната, произрастающего в Туркестанской области, на патогенах человека была подтверждена зонами ингибирования роста бактерий *Staphylococcus aureus* - $13,5 \pm 0,05$, *Escherichia coli* - $12,8 \pm 0,05$ и *Pseudomonas aeruginosa* - $10,7 \pm 0,05$. При этом *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 проявил наиболее сильное ингибирующее отношение к *Staphylococcus aureus*.

S. aureus - один из распространенных и часто вызывающих кожные заражения, который может вызывать широкий диапазон инфекционных заболеваний. Анализ результатов культивирования на агаризованной среде показал зону ингибирования штамма *S. cerevisiae* Az-12 для *Staphylococcus aureus* ($13,5 \pm 0,05$) мм (рисунок 6).



Рисунок 6 – Зона ингибирования *Staphylococcus aureus* пробиотическим штаммом *S. cerevisiae* Az-12

Предотвращение прилипания и транслокации бактерий в кишечных эпителиальных клетках связано с тем, что клеточная стенка *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 обладает способностью связывать энтеропатогены. В нашем исследовании мы использовали седиментационные и микроскопические методы для оценки адгезии бактериальных клеток к пробиотической клеточной стенке дрожжей. В методе седиментации на основе субъективной оценки размера гранул были получены явно положительные результаты для *S. Aureus* (рисунок 7).

Наши результаты согласуются с сообщением о том, что клеточная стенка *S. cerevisiae* var. *boulardii* показала связывающую способность к энтерогеоморрагической *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* [20, 21]. Пробиотическая активность *S. cerevisiae* var. *boulardii*, основанная на связывании клеток *E. coli*, также была подтверждена в исследованиях *in vivo* [20]. Пробиотическая обработка дрожжей на вызванную сальмонеллой расстройством

кишечника: предотвращающий эффект был обусловлен связыванием *S. typhimurium* с дрожжами, интенсивнее чем с кишечными эпителиальными клетками [21, 22].

По проведенным исследованиям, в которых представлены результаты, демонстрирующие способность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 связывать бактериальные штаммы *Staphylococcus aureus*, также было установлено, что прилипание кишечных бактерий может быть ингибировано D-маннозой или α-маннозидазой. Кроме того, дрожжевые маннопротеины могут служить рецепторами белок-белковых взаимодействий между дрожжами и бактериями.

Способность дрожжей связывать бактериальные клетки происходит из-за присутствия маннопротеинов в структуре клеточной стенки, и поэтому она не является уникальной особенностью, присущей *S. cerevisiae* var. *boulardii*, а это скорее универсальная особенность всех штаммов рода *Saccharomyces* [19]. Тем не менее, сканирующая электронная микроскопия показывает, что бактерии *Staphylococcus aureus* были более сильно связаны с поверхностью *S. cerevisiae* var. *boulardii* (рисунок 7), чем на поверхности не пробиотических штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

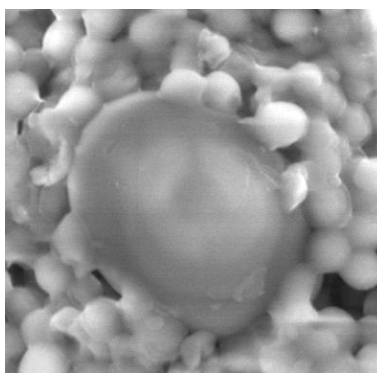


Рисунок 7 – Исследование адгезии *Staphylococcus aureus* к пробиотической клеточной стенке дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Az-12

Различия в связывающей способности также могут быть обусловлены условиями культивирования, такими как температура, влажность и pH. Таким образом, важным начальным событием в бактериальном патогенезе является приверженность бактерий через их поверхностные органеллы связываться с клетками кишечника хозяина. Использование *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 как пробиотика определяется тем, что данные дрожжи могут противодействовать адгезии патогенов к тканям хозяина, обеспечивая альтернативные места адгезии к энтеробактериям и таким образом предотвращают инфекции. Они также могут устранять патогены из желудочно-кишечного тракта инфицированных пациентов, выводя их из организма в связанном с дрожжевыми клетками состоянии.

Заключение В традиционной ферментированной пище образуется ряд веществ, потенциально полезных для здоровья человека. Использование пробиотических культур позволяет получить продукцию, содержащую эти культуры, за счет различных механизмов, благотворно влияющих на микрофлору кишечника. Однако пробиотические свойства специфичны и очень часто недостаточно хорошо охарактеризованы. Свойства штаммов одного и того же вида могут быть очень разными, поэтому для здоровья человека потенциальная пробиотическая способность должна быть очень хорошо охарактеризована.

Микрофлора человеческого организма очень сложна, и важно поддерживать соответствующий гомеостаз, который может быть неуравновешен при использовании антибиотиков. Это можно предотвратить или восстановить с помощью соответствующих пробиотиков. К сожалению, из-за сложности возможных взаимодействий и различных механизмов действий очень сложно зарегистрировать и коммерциализировать новый пробиотик.

Пробиотическая активность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 против человеческих патогенов обусловлена снижением бактериального роста за счет прилипания бактерий к стенкам дрожжевых клеток. Пробиотические штаммы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 вызвали

значительное сокращение количества клеток *P. aeruginosa*, *E. coli* и *S. aureu*. Способность *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 для связывания энтеропатогенов была подтверждена для *Staphylococcus aureus*.

Однако механизмы связывания кокков с поверхностью дрожжевых клеток ещё предстоит исследовать. Использование *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 может ограничить бактериальную инвазивность и инфекции, вызванные патогенами человека, за счет сокращения числа жизнеспособных и активных клеток бактерий и снижением патогенов, связанных с адгезивной поверхностью дрожжей и способностью в связанном состоянии выводиться из желудочно-кишечного тракта. Появление альтернативных мест адгезии к энтеробактериям дополнительно предотвращают инфекции.

Пробиотические штаммы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 вызвали статистически значимое сокращение количество клеток *P. aeruginosa*, *E. coli* и *S. aureu*. Зоны ингибирования равны ($12,8 \pm 0,05$) для *Escherichia coli*; ($13,5 \pm 0,05$) мм для *Staphylococcus aureus* и ($10,7 \pm 0,05$) для *Pseudomonas aeruginosa*. К *Enterococcus faecalis* дрожжи не проявили антагонистическую активность.

Список литературы

- 1 Кошерава Б.Н., Доскожаева С.Т. Современные подходы и стандарты лечения острых кишечных инфекций в республике Казахстан//Казахстанский фармацевтический вестник [электр.ресурс]-URL: http://pharmnews.kz/news/sovremennyye_podkhody_i_standarty_licheniya_ostroykh_kishechnykh_infekciy_v_respublike_kazakhstan/2019-03-11-9590(: 12-04-2019).*Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria*, FAO, Switzerland, 2001. – 246p.).
- 2 Kumura H., Tanoue Y., Tsukahara M., Tanaka T., Shimazaki K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications//J. Dairy Sci. - 2004. - vol.87. - P.4050-4056.
- 3 Pothoulakis C. Review article: Anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2009. - vol.30. - P.826-833.
- 4 MacFarland L.V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease//Am. J. Gastroenterol - 2006. - vol.101. - P.812-822.
- 5 Beaugerie L., Petit J.C. Antibiotic-associated diarrhoea, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol - 2004. - vol.18. - P.337-352.
- 6 Czerucka D., Piche T., Rampal P. Review article: Yeasts as probiotics - *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2007. - vol.26. - P.767-778.
- 7 Gedek B.R. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*//Mycoses - 1999. - vol. 42. - P.261-264.
- 8 Strus M. A new method for testing antagonistic activity of lactic acid bacteria (LAB) on selected pathogenic indicator bacteria//Med. Do?w. Mikrobiol - 1998. - vol.50. - P.123-130.
- 9 Kr?giel D., Berowska J. Evaluation of yeast cell vitality using different fluorescent dyes//Sci. Bull. Tech. Univer. Lodz Food Chem. Biotechnol. - 2009. - vol.73. - P.5-14.
- 10 STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 6.0, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2001) (www.statsoft.com).
- 11 Baranyi J., Roberts T.A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food//Int. J. Food Microbiol. - 1994. - vol.23. - P.277-294.
- 12 Zaika L.L., Philips J.G., Fanelli J.S., Scullen O.J. Revised model for aerobic growth of *Shigella flexneri* to extend the validity of predictions at temperatures between 10 and 19 °C// Int. J. Food Microbiol - 1998. - vol.41. - P.9-19.
- 13 Bizot M. Antagonism phenomena between various microorganisms: Yeasts and bacteria// La Presse Med. - 1955. - vol.63. - P.1251-1252.
- 14 Brugier S., Patte F. Antagonism in vitro between ultra levure and different species of bacteria//Med. Paris - 1975. - vol.45. - P.3-8.
- 15 Bornet M., Bergogne-Berezin E. Bacterial growth in enteral eliminations value of the addition of *Saccharomyces boulardii*//Sci. Aliments - 1986. - vol.6. - P.63-73.
- 16 Zbinden R., Gonczy E.E., Altwegg M. Inhibition of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.) on cell invasion of *Salmonella typhimurium* and *Yersinia enterocolitica*//Microb. Ecol. Health Dis - 1999. - vol.11. - P.158-162.
- 17 Rodrigues A.C., Cara D.C., Fretez S.H., Cunha F.Q., Vieira E.C., Nicoli J.R., Vieira L.Q. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice//J. Appl. Microbiol - 2000. - vol.89. - P.404-414.
- 18 Martins F.S., Nardi R.M.D., Arantes R.M.E., Rosa C.A., Neves M.J., Nicoli J.R. Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice//J. Gen. Appl. Microbiol. - 2005. - vol.51. - P.83-92.
- 19 Martins F.S., Dalmaso G., Arantes R.M.E., Doye A., Le Miches E., Lagadecet P. Interaction of *Saccharomyces boulardii* with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium protects mice and modifies T84 cell response to the infection//PLoS ONE - 2010. - vol.5.

- 20 Lessard M., Dupuis M., Gagnon N., Nadeau E., Matte J.J., Goulet J., Fairbrother J.M. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae* boulardii modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge//J. Anim. Sci. - 2009. - vol.87. - P.922-934.
- 21 Korhonen T.K., Leffler H., Eden C.S. Binding specificity of pilated strains of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* to epithelial cells, *Saccharomyces cerevisiae* cells and erythrocytes//Infect. Immun. - 1981. - vol.32. - P.796-804.
- 22 McDermid A.S., McKee A.S., Dowset A.B., Marsch P.D. The effect of environmental pH on the physiology and surface structures of *Salmonella* serotype Enteritidis phage type 4//J. Med. Microbiol. - 1996. - vol.6. - P.452-458.

А.А.Сапарбекова¹, А.С.Латиф¹, З.Р.Ахмедова²

¹ М. Ауэзов атындағы Оңтүстік- Қазақстан мемлекеттік Университеті, Шымкент, Қазақстан

² Өзбекстан Республикасы Ғылым Академиясының микробиология институты, Ташкент, Өзбекстан

***Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 ашытқылардың бактерияға қарсы белсенділігін зерттеу**

Аңдатпа. Жедел ішек инфекцияларын емдеу және алдын-алу проблемасы барлық елдерде өткір болып табылады. Түркістан аймағында өсірілген анар шырынынан оқшауланған *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 штамдары *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* пробиотикалық культураның ерекшеліктерін жүзеге асырады. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 антагонистикалық қабілеті мынадай шартты патогенді немесе патогенді бактериялармен зерттелді: диареямен байланысты ең жиі кездесетін бактериялар ретінде *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* және *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 *Staphylococcus aureus* және *Escherichia coli*-ға ерекше ингибиция қатынасын көрсетті. Адамның патогендеріне қарсы *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 пробиотикалық белсенділігінің бактериялардың ашытқы жасушаларының қабырғаларына жабысуына байланысты бактериялық өсудің төмендеуіне байланысты екендігі дәлелденді.

Пробиотикалық ашытқы мәдениеті *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii* Az-12 түрлі диареялық ауруларды емдеуге арналған профилактикалық және терапевтік агент ретінде қолданыла алады.

Түйін сөздер: ашытқы, *Saccharomyces cerevisiae*, пробиотиктер, антагонизм, оппортунистік немесе патогендік бактериялар.

А.А. Сапарбекова¹, А.С. Латиф¹, З.Р. Ахмедова²

¹ M. Auezov South-Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan

² Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

The research of the antibacterial activity of yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12

Annotation. The problem of treatment and prevention of acute intestinal infections is urgent in all countries without exception. The strain *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, isolated from the juice of pomegranate, grown in the Turkestan region, shows the features of the probiotic culture *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 antagonistic abilities were studied with the following conditionally pathogenic or pathogenic bacteria: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* as the most common bacteria associated with diarrhea diseases. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 has a distinct inhibitory relationship to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It has been proven that probiotic activity of *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 against human pathogens is due to a decrease in bacterial growth and due to the adherence of bacteria to the walls of yeast cells. Probiotic yeast cultures *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* Az-12 can be used as a preventive and therapeutic agent for the treatment of various diarrheal diseases.

Keywords: yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, probiotics, antogenism, conditionally pathogenic and pathogenic bacteria.

References

- 1 Kosherova B. N., Doskozhaeva S. T. Sovremennyye podhody i standarty lecheniya ostrykh kishchnykh infekcij v respublike Kazahstan//Kazahstanskij farmacevticheskij vestnik [Modern approaches and standards of treatment of acute intestinal infections in the Republic of Kazakhstan//Kazakhstan pharmaceutical Bulletin], [Elect.resource] Available at: http://pharmnews.kz/news/sovremennyye_podkhody_i_standarty_lecheniya_ostrykh_kishchnykh_infekcij_v_respublike_kazahstan/2016-03-11-9590(Accessed : 12.04.2019)*Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk and Live Lactic Acid Bacteria, F&A*
- 2 Kumura H., Tanoue Y., Tsukahara M., Tanaka T., Shimazaki K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications//J. Dairy Sci. - 2004. - vol.87. - P.4050-4056.
- 3 Pothoulakis C. Review article: Anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2009. - vol.30. - P.826-833.
- 4 MacFarland L.V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease//Am. J. Gastroenterol - 2006. - vol.101. - P.812-822.
- 5 Beaugerie L., Petit J.C. Antibiotic-associated diarrhoea, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol - 2004. - vol.18. - P.337-352.
- 6 Czerucka D., Piche T., Rampal P. Review article: Yeasts as probiotics - *Saccharomyces boulardii*//Aliment. Pharm. Therap. - 2007. - vol.26. - P.767-778.
- 7 Gedek B.R. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*//Mycoses - 1999. - vol. 42. - P.261-264.

- 8 Strus M. A new method for testing antagonistic activity of lactic acid bacteria (LAB) on selected pathogenic indicator bacteria//Med. Do?w. Mikrobiol - 1998. - vol.50. - P.123-130.
- 9 Krigiel D., Berowska J. Evaluation of yeast cell vitality using different fluorescent dyes//Sci. Bull. Tech. Univer. Lodz Food Chem. Biotechnol. - 2009. - vol.73. - P.5-14.
- 10 STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 6.0, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2001) (www.statsoft.com).
- 11 Baranyi J., Roberts T.A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food//Int. J. Food Microbiol. - 1994. - vol.23. - P.277-294.
- 12 Zaika L.L., Philips J.G., Fanelli J.S., Scullen O.J. Revised model for aerobic growth of Schigella flexneri to extend the validity of predictions at temperatures between 10 and 19 ° C// Int. J. Food Microbiol - 1998. - vol.41. - P.9-19.
- 13 Bizot M. Antagonism phenomena between various microorganisms: Yeasts and bacteria// La Presse Med. - 1955. - vol.63. - P.1251-1252.
- 14 Brugier S., Patte F. Antagonism in vitro between ultra levure and different species of bacteria//Med. Paris - 1975. - vol.45. - P.3-8.
- 15 Bornet M., Bergogne-Berezin E. Bacterial growth in enteral eliminations value of the addition of Saccharomyces boulardii//Sci. Aliments - 1986. - vol.6. - P.63-73.
- 16 Zbinden R., Gonczi E.E., Altwegg M. Inhibition of Saccharomyces boulardii (nom. inval.) on cell invasion of Salmonella typhimurium and Yersinia enterocolitica//Microb. Ecol. Health Dis - 1999. - vol.11. - P.158-162.
- 17 Rodrigues A.C., Cara D.C., Fretez S.H., Cunha F.Q., Vieira E.C., Nicoli J.R., Vieira L.Q. Saccharomyces boulardii stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice//J. Appl. Microbiol - 2000. - vol.89. - P.404-414.
- 18 Martins F.S., Nardi R.M.D., Arantes R.M.E., Rosa C.A., Neves M.J., Nicoli J.R. Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice//J. Gen. Appl. Microbiol. - 2005. - vol.51. - P.83-92.
- 19 Martins F.S., Dalmasso G., Arantes R.M.E., Doye A., Le Miches E., Lagadecet P. Interaction of Saccharomyces boulardii with Salmonella enterica serovar Typhimurium protects mice and modifies T84 cell response to the infection//PLoS ONE - 2010. - vol.5.
- 20 Lessard M., Dupuis M., Gagnon N., Nadeau E., Matte J.J., Goulet J., Fairbrother J.M. Administration of Pediococcus acidilactici or Saccharomyces cerevisiae boulardii modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after Escherichia coli challenge//J. Anim. Sci. - 2009. - vol.87. - P.922-934.
- 21 Korhonen T.K., Leffler H., Eden C.S. Binding specificity of pilated strains of Escherichia coli and Salmonella typhimurium to epithelial cells, Saccharomyces cerevisiae cells and erythrocytes//Infect. Immun. - 1981. - vol.32. - P.796-804.
- 22 McDermid A.S., McKee A.S., Dowset A.B., Marsch P.D. The effect of environmental pH on the physiology and surface structures of Salmonella serotype Enteritidis phage type 4//J. Med. Microbiol. - 1996. - vol.6. - P.452-458.

Сведения об авторах:

Сапарбекова А.А. - кандидат биологических наук, доцент кафедры «Биотехнология» Южно-Казахстанского государственного университета имени М.Ауэзова, проспект Тауке хана 5, г. Шымкент, Казахстан.

Латиф А. - магистр естественных наук, старший преподаватель кафедры «Биология» Южно-Казахстанского государственного университета имени М.Ауэзова, проспект Тауке - хана 5, Шымкент, Казахстан.

Ахмедова З.Р. - доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией «Ферменты микроорганизмов» Института микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, город Ташкент, Узбекистан.

Н.М. Сафронова, О.Н. Бабенко*Кокшетауский государственный университет им. Ш. Уалиханова, Кокшетау, Казахстан
(E-mail: safronat@rambler.ru, Babenko_ON@mail.ru)***Сдвиги в фенологии цветения некоторых дикорастущих видов растений в окрестностях города Кокшетау**

Аннотация: За последние 30-45 лет в Акмолинской области наблюдаются изменения некоторых характеристик климатических факторов (увеличение средней годовой температуры, количества осадков и т.д.). Сезонность биологических явлений, фенология, находится в прямой зависимости от таких изменений. В ходе исследований, проводившихся в последнюю декаду сентября 2013, 2016 и 2018 годов, в окрестностях города Кокшетау было выявлено 37 видов цветущих растений, цветение большей части которых нетипично для данного периода. У 70% обнаруженных цветущих растений, наблюдались существенные сдвиги в фенологии цветения, а у некоторых видов отмечалось и повторное цветение. Также были зафиксированы случаи увеличения длительности цветения. В статье рассматривается связь между сдвигами в фенологии цветения некоторых дикорастущих видов растений с климатическими факторами.

Ключевые слова: сроки цветения, повторное цветение, дикорастущие растения, видовой состав, климатические факторы, окрестности города Кокшетау

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-90-99>

Введение. В последние два десятилетия внимание ученых привлекают значительные изменения климата Земли. Наблюдается увеличение средней годовой температуры, вызывающее таяние ледников и повышение уровня Мирового океана. Глобальные перемены отражаются на состоянии экосистем и, в частности, на фенологии растительных сообществ, которая в значительной степени зависит от длительности и интенсивности действия климатических факторов [1, 2].

Тенденции потепления климата отмечаются и в Акмолинской области. Так, Д.Б. Балтабаева и Е.В. Боголюбова [3] провели сравнительные исследования изменения некоторых характеристик климатических факторов в период с 1971 по 2000 годы на 4 метеостанциях (г. Акколь, г. Астана, г. Бирлик, г. Кокшетау) Акмолинской области. Они пришли к выводу, что годовая температура увеличилась по сравнению с периодом 1951-1980 гг. на 0,4-0,5 °С. При этом температуры холодного периода были выше в среднем на 0,5 °С, а в теплый период – на 0,3 °С. В то же время, на фоне роста температур для большинства станций наблюдалось повышение количества осадков. Учитывая, что периоды цветения растений существенным образом определяются оптимальностью температуры и влажности среды обитания, представляло интерес выяснить, происходят ли изменения в фенологии у дикорастущих видов в окрестностях города Кокшетау под влиянием происходящих преобразований климата.

1. Методы исследования. Учет цветущих дикорастущих видов растений проводился в последнюю декаду сентября 2013, 2016 и 2018 годов в окрестностях города Кокшетау. Город Кокшетау находится в предгорьях Кокшетауской возвышенности, в подзоне засушливой степи, в равнинной части междуречья реки Кылшапкты, протекающей в восточной части города, и реки Шагылалы (Чаглинка), протекающей с западной стороны города. На северо-западе к городу примыкает юго-восточное побережье озера Копа. С южной и юго-западной стороны рельеф представлен типичным мелкосопочником. Северная и северо-восточная часть города представлена плоской, слабохолмистой равниной. Характерные абсолютные высоты, отмеченные в пределах города – 254-274 м, в пределах южной мелкосопочной части – 357-405 м (сопка Букпа и Галочья сопка). Абсолютная отметка горы Еликты – 502 м. На севере равнинной части абсолютные отметки колеблются от 225 до 245 м. Относительные превышения водораздельных вершин над уровнем моря составляют 60-65 м [4]. Климат района континентальный, характеризуется сильными колебаниями летних температур в разные годы

и резкими сменами температур в течение одного вегетационного периода [5, 6]. Наибольшее количество осадков приходится на летние месяцы – 80%. Они имеют ливневый характер. Глубина снежного покрова 0,5-1,5 м. Самый жаркий месяц – июль (средняя температура +19,6°С), самый холодный – январь (средняя температура -16,2°С). Теплый сезон года с температурами выше +10°С длится в среднем 137 дней с 6 мая по 21 сентября [4]. Исследования проводились в районе сопки Букпа (спортивный комплекс «Динамо»), которая находится на западной окраине города, маршрутным способом [7, 8]. С подветренной стороны сопка покрыта естественными березово-сосновыми лесками, а также лесопосадками из ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior*) и клена ясенелистного (*Acer negundo*) с примесью жимолости татарской (*Lonicera tatarica*). Открытые участки заняты степями или степными лугами.

2. Результаты и их обсуждение

При обследовании территории нами было обнаружено 37 видов цветущих растений, аннотированный список которых представлен ниже.

1. *Anemone silvestris* L. – Ветреница лесная. Повторное цветение, обычно цветет V-VI. Растет по опушкам березово-сосновых лесков, во влажных понижениях.

2. *Cerastium arvense* L. – Ясколка полевая. Цветёт V-VIII. Встречается вдоль дорожек по щебнистым склонам, на остепненных лугах.

3. *Dianthus uralensis* Korsh. – Гвоздика уральская. Цветет VI-VIII. Растет на травянистых склонах и остепненных лугах.

4. *Dianthus acicularis* Fisch. ex Ledeb. – Гвоздика иглолистная. Повторное цветение, обычно цветет VI-VII. Встречается на щебнистых участках, в степи.

5. *Alyssum biovulatum* N. Busch. – Бурачок двусемянный. Повторное цветение, плодики зеленые, обычно цветет V-VI [9]. Редок, растет на каменисто-щебнистых открытых участках.

6. *Berteroa incana* (L.) DC. – Икотник серо-зеленый. Цветет все лето начиная со второй декады июня. Растет в разнообразных условиях: на опушках лесков, степных лугах, сухих щебнистых склонах.

7. *Clausia aprica* (Steph.) Korn.-Tr. – Клаусия солнцепечная. Цветет V-VII, в некоторые годы и в более поздние сроки. Растет на степных лугах.

8. *Orostachys spinosa* (L.) C.A. Mey. – Горноколосник колючий. Отмечено начало цветения. Растет на плоских каменисто-щебнистых вершинах мелкосопочника.

9. *Potentilla bifurca* L. – Лапчатка вильчатая. Цветет с мая и в течение лета, по литературным данным V-VII [10]. Встречается в разнообразных местообитаниях с низким травостоем: в степях, на остепненных лугах и щебнистых склонах.

10. *Potentilla humifusa* Willd. ex Schldtl. – Лапчатка распростертая. Цветет V-VII, возможно повторное цветение: у растений не было развивающихся плодов. Растет в степи, на степных лугах, на каменисто-щебнистых склонах сопки.

11. *Astragalus onobrychis* L. – Астрагал эспарцетный. Цветет VI-VII. Возможно повторное цветение, развивающихся плодов не было. Растет на остепненных лугах.

12. *Medicago falcata* L. – Люцерна серповидная. Цветет всё лето. Растет на травянистых и каменистых склонах.

13. *Medicago lupulina* L. – Люцерна хмелевидная. Цветет V-VIII. Растет на травянистых склонах, на остепненных лугах.

14. *Oxytropis pilosa* (L.) DC. – Остролодочник волосистый. Обычные сроки цветения V-VII. У обнаруженных растений были только молодые соцветия или еще нераскрытые цветки. Встречается на остепненных лугах.

15. *Polygala hybrida* DC. – Истод гибридный. Цветет V-VII. Встречается на остепненных лугах и по опушкам березово-сосновых лесков. В нижней части соцветий завязывались плоды.

16. *Eryngium planum* L. – Синеголовник плоский. Растения большей частью отцвели. Сроки цветения обычно VII-VIII. Встречается на остепненных лугах и в ковыльно-типчаковых фитоценозах у подножия мелкосопочника.

17. *Seseli ledebourii* G. Don – Жабрица Ледебера. Обычно цветет V-VI, возможно повторное цветение. Растет по щебнистым склонам.

18. *Nonea pulla* (L.) DC. – Нонейя темно-бурая. Обычно цветет ранней весной и заканчивает в начале июля. У встреченных растений имелись одиночные цветки, растения были с развивающимися плодами, желтеющие. Растет на остепненных лугах.

19. *Onosma simplicissima* L. – Оносма простейшая. Повторное цветение, обычно цветет V-VI. Встречается на щебнистых участках на вершинах увалов сопок и по склонам.

20. *Plantago stepposa* Kupr. – Подорожник степной. Цвела только верхняя часть соцветия. Обычно заканчивает цветение к концу июля. Растет на степных участках, по низинам.

21. *Leonurus cardiaca* L. – Пустырник сердечный. Встречается вдоль спортивных дорожек, на остепненных лугах. Этот вид отсутствует во «Флоре Казахстана» [11] и в Сводке сосудистых растений [12]. Возможно заносный вид из городских окраин.

22. *Salvia stepposa* Schost. – Шалфей степной. Находился в активной фазе цветения. По данным [9] сроки цветения: VI-VII. Однако в исследуемом районе можно встретить цветущие растения с конца мая и до конца сентября. Встречается на сухих степных лугах.

23. *Thymus marschallianus* Willd. – Тимьян Маршалла. Находился в фазе завершения цветения, большая часть раскрытых цветков находилась в верхней части соцветия. Обычные сроки цветения V-VIII. Встречается в верхней части мелкосопочника по степным склонам.

24. *Campanula sibirica* L. – Колокольчик сибирский. По литературным данным [13] цветет V-VII, в наших условиях сроки, по-видимому, сдвинуты на более поздний период: цветение отмечается и в сентябре. Встречаются на остепненных лугах, на опушках березово-сосновых лесков, вдоль дорожек.

25. *Achillea millefolium* L. – Тысячелистник обыкновенный. Цветет VII-X. Встречается на остепненных лугах, по щебнистым склонам.

26. *Artemisia frigida* Willd. – Полынь холодная. Цветет VII-IX. Растет на открытых остепненных участках, в степи.

27. *Aster alpinus* L. – Астра альпийская. Повторное цветение. Обычно цветет V-VI. Встречается по окраине березово-сосновых лесков на открытых участках.

28. *Carduus stenocephalus* Tamamsch. – Чертополох узкоголовый. Обычно к сентябрю заканчивает цветение. Большая часть соцветий отцвела. Растет на сухих лугах, вдоль дорожек на открытых участках.

29. *Carduus thoermeri* Weinm. – Чертополох Тёрмера. Цветет с конца июня. Растет по степным лугам, а также вдоль дорог. Соцветия опылялись насекомыми.

30. *Centaurea adpressa* Ledeb. – Василёк прижаточешуйчатый. Цветет VI-IX. Растет в степях, на щебнистых участках.

31. *Centaurea sibirica* L. – Василек сибирский. Повторное цветение, обычно цветет V-VI. Растет на каменистых открытых участках.

32. *Echinops ruthenicus* M. Bieb. – Мордовник русский. Цветет обычно VI-VII. Растения заканчивали цветение. Растет на остепненных лугах, на щебнистых склонах.

33. *Galatella angustissima* (Tausch.) Novopokr. – Солонечник узколистный. Большая часть растений заканчивала цветение. Обычные сроки цветения VII-IX. Встречается на сухих степных лугах, по каменистым склонам мелкосопочника.

34. *Hieracium umbellatum* L. – Ястребинка зонтичная. Цветет VII-IX. Растет по опушкам березовых колков, в луговых степях, на щебнистых участках.

35. *Inula aspera* Poir. – Девясил шероховатый. Находился в фазе завершения цветения, часть соцветий отцвела, на листьях красные пятна. Обычные сроки цветения V-VIII. Встречается на остепненных лугах.

36. *Scabiosa ochroleuca* L. – Скабиоза бледно-желтая. По данным Ролдугина И.И. [13] цветет VI-VII, в наших условиях начинает цвести в конце июня и заканчивает в сентябре. Растет на остепненных и кустарниковых склонах, на степных лугах.

37. *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip. – Трехреберник непахучий. Обычно заканчивает цветение в конце июля – середине августа. Растет по открытым местам, вдоль проложенных дорожек, на остепненных лугах.

Как показали наши исследования, большинство из обнаруженных видов цветущих дикорастущих растений предпочитают местообитания с дефицитом влаги. На остепненных

лугах и в степных фитоценозах обитают 67,2% от зарегистрированных видов, далее идут растения петрофитных группировок каменисто-щебнистых участков (28,6%), и малую долю составили растения относительно влажных биотопов (14,3%) (рисунок 1).

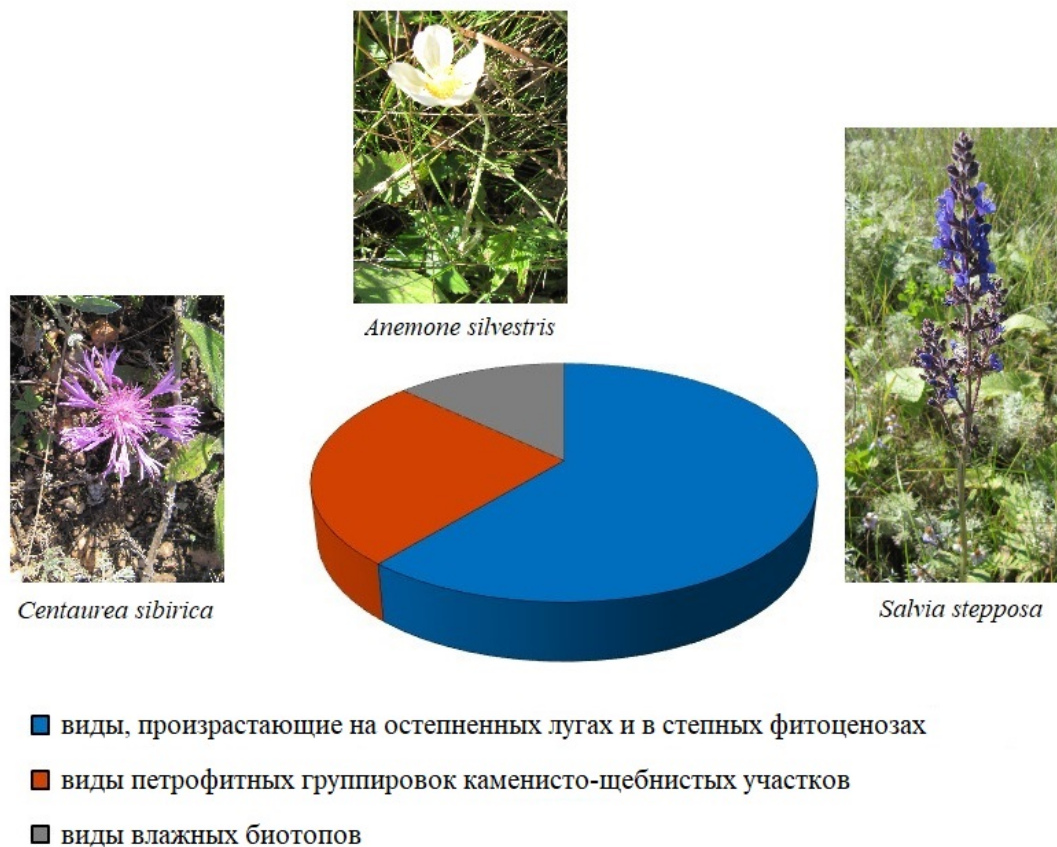


Рисунок 1 – Экологические группы растений по отношению к месту произрастания

При анализе экологических групп, выделенных по отношению к влажности почвы, было выявлено преобладание ксероморфных типов среди исследуемых видов дикорастущих растений. Согласно представленным данным (рисунок 2) 40,5% от общего числа видов относятся к мезофитной группе, однако только 16,2% из них, такие виды как ветреница лесная (*Anemone silvestris*), девясил шероховатый (*Inula aspera*), пустырник сердечный (*Leonurus cardiaca*) и трёхрёберник непахучий (*Tripleurospermum inodorum*), являются истинными облигатными мезофитами. Основная часть обнаруженных мезофитов имеет адаптации к периодически возникающему водному дефициту. Причем, следует отметить, что пустырник сердечный (*Leonurus cardiaca*) нетипичен для описываемых фитоценозов, и его присутствие, вероятно, обусловлено близостью городских окраин.

Ксерофитная группа составила относительное большинство – 59,5%, с преобладанием мезоксерофитов остепненных лугов. Следует отметить, что большинство из обнаруженных ксерофитов, обитающих на щебнисто-каменистых участках, (4 из 6 видов) обычно цветет поздней весной, когда еще достаточно влажно и уже достаточно тепло. Учитывая, что фаза цветения одна из наиболее чувствительных по отношению к факторам среды, такая стратегия позволяет избежать губительного влияния ранневесенних заморозков и летнего недостатка влаги.

Было установлено, что цветение большей части видов растений было нетипично для этого периода (рисунок 3). Доля видов, заканчивающих цветение в июне-июле (по нашим и литературным данным [14]) составила 48,6%. Поздней весной обычно завершают цветение 5 видов: ветреница лесная (*Anemone silvestris*), астра альпийская (*Aster alpinus*), бурачок двусемянный (*Alyssum obovatum*), оносма простейшая (*Onosma simplicissima*) и василек

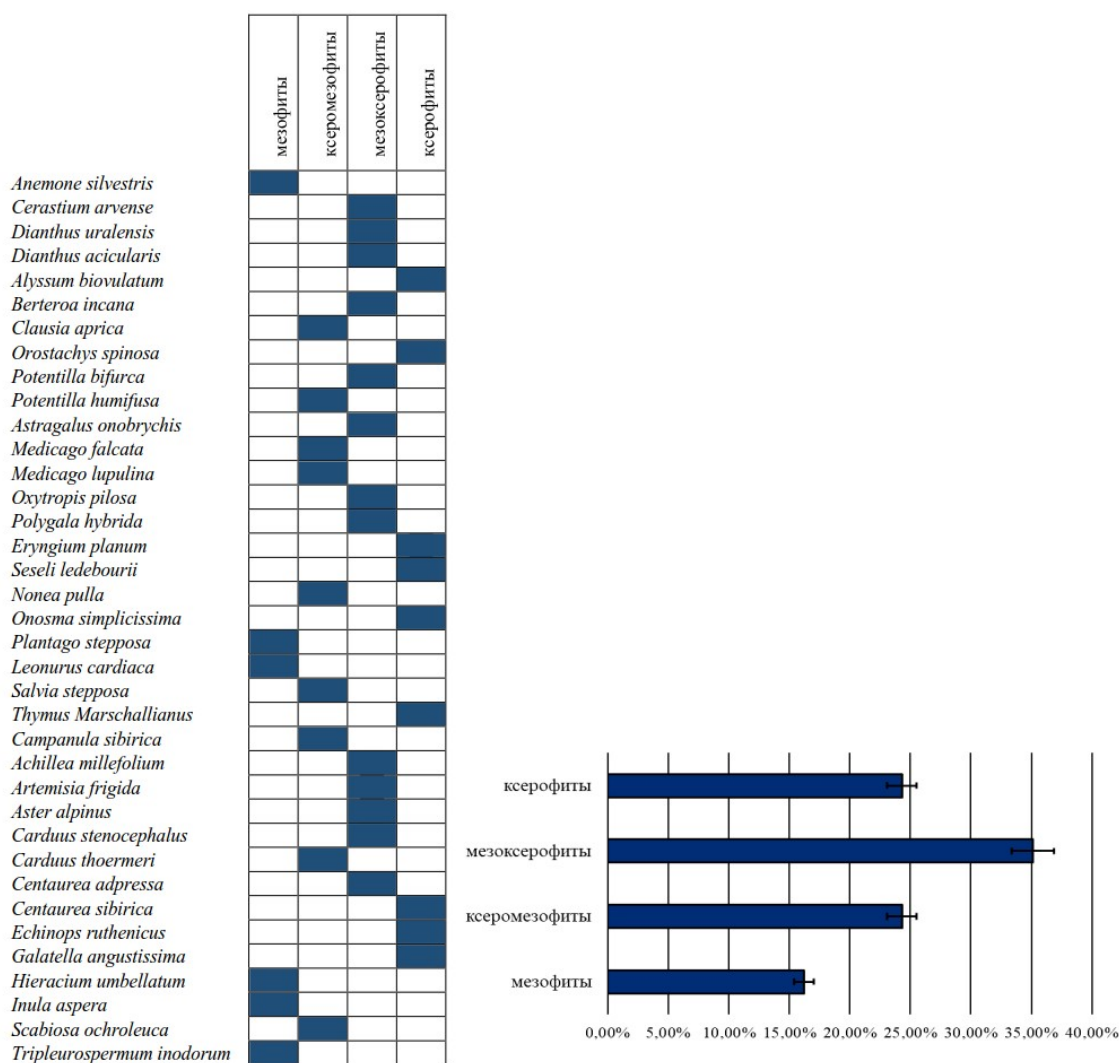


Рисунок 2 – Экологические группы растений по отношению к условиям увлажнения

сибирский (*Centaurea sibirica*). Чуть позже к концу июня еще 2 вида - жабрица Ледебура (*Seseli ledebourii*) и нонья темно-бурая (*Nonea pulla*) переходят к плодообразованию. Возобновление цветения также отмечено еще для 29,7% видов, обычно заканчивающих цветение в июле. В общей сложности повторное цветение наблюдалось у 32,4% исследуемых видов растений. Изменение фенологии цветения выражалось и в удлинении периода цветения у 29,7% видов. Эти виды обычно завершают цветение к последней декаде августа.

Изменения в фенологии цветения отмечаются учеными разных стран. Так, британские исследователи обнаружили, что у 385 изученных видов дата начала цветения сдвинулась на 4,5 дня за последние 10 лет [15]. Изучение 60 видов горных луговых сообществ в Скалистых горах Колорадо (США) показало, что разнообразие фенологических сдвигов на видовом уровне способствовало расширению сезона цветения более чем на один месяц [16]. Кроме того, ученые отмечают нарушение синхронности цветения среди растений одного вида [17]. Все эти новые явления, по мнению авторов, в дальнейшем могут привести к уменьшению дифференциации фенологических ниш между видами и, как следствие, формированию новой конкурентной среды и изменениям в структуре растительных сообществ [17].

Сдвиги в фенологии цветения главным образом объясняют глобальными преобразованиями климата, включающими увеличение среднегодовых температур, которое в свою очередь приводит к таянию ледников, повышению уровня Мирового океана. Фенологические события очень чувствительны к таким изменениям климата.

	май	июнь	июль	август	сентябрь
<i>Anemone silvestris</i>	п	о	с		п
<i>Cerastium arvense</i>	п	о	о	о	у
<i>Dianthus uralensis</i>		п	о	о	у
<i>Dianthus acicularis</i>		п	о	с	п
<i>Alyssum biovulatum</i>	п	о	с		п
<i>Berteroa incana</i>		п		с	у
<i>Clausia aprica</i>	п	о	о	о	у
<i>Orostachys spinosa</i>			п		с
<i>Potentilla bifurca</i>	п	о	с		у
<i>Potentilla humifusa</i>	п	о	о	о	у
<i>Astragalus onobrychis</i>		п	с		п
<i>Medicago falcata</i>		п	о	о	у
<i>Medicago lupulina</i>		п	о	о	у
<i>Oxytropis pilosa</i>	п	о	о	с	п
<i>Polygala hybrida</i>	п	о	о	с	п
<i>Eryngium planum</i>			п	о	у
<i>Seseli ledebourii</i>	п	о	о	с	п
<i>Nonea pulla</i>	п	о	о	с	п
<i>Onosma simplicissima</i>	п	о	с		п
<i>Plantago stepposa</i>		п	о	о	с
<i>Leonurus cardiaca</i>		п	о	о	с
<i>Salvia stepposa</i>	п	о	о	с	п
<i>Thymus Marschallianus</i>		п		с	с
<i>Campanula sibirica</i>		п		с	у
<i>Achillea millefolium</i>			п	о	с
<i>Artemisia frigida</i>			п	о	с
<i>Aster alpinus</i>	п	о	с		п
<i>Carduus stenocephalus</i>			п	с	с
<i>Carduus thoermeri</i>			п	с	с
<i>Centaurea adpressa</i>		п	о	о	с
<i>Centaurea sibirica</i>	п	о	с		п
<i>Echinops ruthenicus</i>		п	о	с	у
<i>Galatella angustissima</i>			п		с
<i>Hieracium umbellatum</i>			п	о	с
<i>Inula aspera</i>		п	о	о	у
<i>Scabiosa ochroleuca</i>		п	о	о	у
<i>Tripleurospermum inodorum</i>		п	о	о	у

п – зацветание; о – полное цветение; с – отцветание; □ – без сдвига в фенологии цветение; п – повторное цветение; у – увеличение длительности цветения

Рисунок 3 – Сдвиги в фенологии цветения некоторых дикорастущих видов

Удлинение сроков цветения, а также случаи возобновления генеративной фазы в наших исследованиях, по всей видимости, также были обусловлены изменениями в температурном и влажностном режимах. Согласно данным Республиканского гидрометеорологического фонда РГП «Казгидромет» [18] северные регионы Казахстана в 2013 г. по количеству выпавших осадков (осадки были выше нормы на 20-60%) вошли в 10% экстремально влажных лет, начиная с 1941 г. Лето 2013 г. было влажным и экстремально влажным на большей части территории Казахстана. Экстремальное количество осадков, превышающее норму в 2-2,5 раза, было также зафиксировано на территории Костанайской, Северо-Казахстанской, Акмолинской, Павлодарской, Восточно-Казахстанской и Алматинской областей.

Как видно из таблицы 1, в Кокшетау в июле и августе 2013 года наблюдалось аномально высокое количество осадков – 167,8 мм и 78,8 мм соответственно, что превышало в 2,6-2,7 раза среднее количество осадков за рассматриваемый период с 2013 по 2018 гг.

Таблица 1 – Мониторинговые данные температур и количества осадков за 2013-2018 гг.

Календарный год	июнь			июль			август			сентябрь		
	средняя дневная температура	средняя ночная температура	количество осадков	средняя дневная температура	средняя ночная температура	количество осадков	средняя дневная температура	средняя ночная температура	количество осадков	средняя дневная температура	средняя ночная температура	количество осадков
2013	19	15,8	22,6	19,3	17,2	167,8	18,2	16,2	78,7	12,4	9,9	13
2014	20,9	17,6	6	16,3	14,6	81	20,5	17,9	12,8	10,4	8,4	4,9
2015	21,8	19	9,2	19,9	18	19,7	17,4	15,2	11,7	12,4	10,1	7,7
2016	18,3	16,2	44,8	19,8	17,9	51,5	21,3	17,9	16	14,4	12	23,5
2017	20,5	17,9	26,1	19,7	17,4	25,5	20,6	17,5	4,1	12,5	10,1	4,7
2018	17,9	15,8	28,6	17,9	15,8	28,6	17,4	15,4	56,9	12,8	10,6	10,6

Кроме того, 2013 год также стал самым тёплым годом за последние 73 года в Казахстане и занял 1 место в ранжированном по убыванию ряду значений среднегодовых аномалий температуры воздуха [18]. Среднегодовая аномалия температуры воздуха в среднем по Казахстану в 2013 г. составила 1,69°С, что на 0,13°С выше предыдущего максимума, наблюдавшегося в 1983 г.

Цветение дикорастущих видов в условиях петрофитно-степных группировок лимитировано дефицитом влаги, так необходимой для их вегетации. Вероятнее всего, именно аномальное количество осадков в летний период, послужило стимулом для повторного цветения эфемероидов. Достаточно высокая влажность на фоне благоприятных для роста и развития температур способствовала также более продолжительному цветению некоторых видов дикорастущих растений.

Китайские исследователи [19], используя обширный фактический материал, выявили относительно низкую температурную зависимость цветения у видов, цветущих поздней весной и ранним летом. Надежных гипотез, объясняющих этот факт, пока нет, хотя известно, что для их цветения важна сумма накопленных температур [19]. У позднецветущих видов также не обнаружена существенная зависимость цветения от температуры воздуха. Предполагается, что в данном случае более важным для растений контролирующим фактором выступает фотопериод. Учитывая, что основная масса видов растений со сдвигом в цветении по данным наших исследований относится к этим группам, можно предположить, что главную роль в изменении фенологии цветения играл аномально высокий уровень выпавших осадков.

На наличие такой зависимости указывают также данные 2016 и 2018 годов. Годовое количество осадков в 2016 году в среднем по территории Казахстана составило 140% нормы или 441,3 мм. Это максимальное количество осадков, наблюдавшееся за период с 1941 по 2016 год. (1-ый ранг среди влажных лет). Предыдущий максимум количества осадков был в 1958 году (437,8 мм). Летом количество атмосферных осадков составило 153% нормы [20].

В условиях Кокшетау июнь и июль 2016 года (таблица 1) характеризовались аномально высоким количеством выпавших осадков, а август был довольно теплым. Владельцы дачных участков сообщали о повторном цветении в сентябре малины и клубники. В районе сопки

Букпа встречались отдельные экземпляры жимолости татарской (*Lonicera tatarica* L.) с распустившимися цветками. В сентябре 2018 года было обнаружено аномальное цветение прострела раскрытого (*Pulsatilla patens* L.) в районе тубдиспансера, чему, по-видимому, способствовал высокий уровень влажности в течение всего лета.

Таким образом, аномалии в периодах цветения могут быть связаны с климатическими факторами, характер действия и интенсивность которых существенно меняются в последнее десятилетие. Тем не менее, следует учитывать, что на фенологию цветения кроме температуры и влажности оказывают влияние самые различные факторы, такие как фотопериод, биотические связи, структура растительных сообществ и т.д. В связи с этим, представленные выводы требуют дальнейшего изучения.

Благодарность

Авторы статьи выражают благодарность Н.Е. Гецель за активную помощь при проведении полевых исследований.

Список литературы

- 1 Körner C., Basler D. Phenology under global warming // Science, –2010. —Vol.327, Is.5972. —P. 1461-1462.
- 2 Renner S.S., Zohner C.M. Climate change and phenological mismatch in trophic interactions among plants, insects, and vertebrates // Ann. Rev. Ecol., Evol., Syst. —2018. —Vol.49. —P. 165-182.
- 3 Балтабаева Д.Б., Боголюбова Е.В. Анализ статистических характеристик климатических параметров в Центральном Казахстане, в Акмолинской области // Вестник КазНУ. Серия географическая. —2012. №1 (34). —С. 78-89.
- 4 Канитаева К.П., Абдрахманова Г.А., Шалагинова Р.А. Природные условия и исторические процессы социально-экономического развития города Кокшетау: аналитический обзор. — Кокшетау: Кокшетауский филиал АО «Национальный центр НТИ», 2009. —80 с.
- 5 Природное районирование Северного Казахстана: (Кустанайская, Северо-Казахстанская, Кокчетавская, Акмолинская и Павлодарская области) / под ред. Б.А. Федорович. —М.-Л: Изд-во АН СССР, 1960. —С. 279-320.
- 6 Гвоздецкий Н.А., Мамай И.И. Природное районирование Северного Казахстана // Вестник Академии наук СССР. —1961. № 4. —С. 142-145.
- 7 Алехин В.В., Сырейщиков Д.П. Методика полевых ботанических исследований. —Вологда: Северный печатник», 1926. —69 с.
- 8 Артаев О.Н., Башмаков Д.И., Безина О.В. и др. Методы полевых экологических исследований. —Саранск: Изд-во Мордов. Ун-та, 2014. —412 с.
- 9 Васильева А.Н. Семейство Крестоцветные – Cruciferae Juss. // в кн. Флора Казахстана под ред. Н.В Павлова, Б.А. Быкова, З.В. Кубанской. —Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, –1961. —Т. 4. —С. 278-279.
- 10 Байтенов М.Б. Род *Potentilla* L. // в кн. Флора Казахстана под ред. Н.В Павлова, Б.А. Быкова, З.В. Кубанской. —Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, –1961. —Т. 4. —С. 424-448.
- 11 Оразова А.С. Род *Leonurus* L. // в кн. Флора Казахстана под ред. Н.В Павлова, Б.А. Быкова, З.В. Кубанской. —Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, –1961. —Т. 4. —С. 405-408.
- 12 Абдулина С.А. Список сосудистых растений Казахстана / Под ред. Р.В. Камелина. —Алматы, 1999. —187 с.
- 13 Ролдугин И.И. Сем. Ворсянковые – Dipsacaceae Lindl. // в кн. Флора Казахстана под ред. Н.В Павлова, Б.А. Быкова, З.В. Кубанской. —Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, 1965. —Т. 8. —С. 261-274.
- 14 Флора Казахстана / под ред. Н.В Павлова, Б.А. Быкова, З.В. Кубанской. —Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, 1961. —Т. 4. —С. 171-339.
- 15 Fitter A.H., Fitter R.S. Rapid changes in flowering time in British plants // Science. —2002. —Vol. 296, Is. 5573. —P. 1689-1691. doi: [10.1126/science.1071617](https://doi.org/10.1126/science.1071617).
- 16 CaraDonna P.J., Iler A.M., Inouye D.W. Shifts in flowering phenology reshape a subalpine plant community// PNAS. —2014. —Vol. 111. —P. 4916–4921. doi: [10.1073/pnas.1323073111](https://doi.org/10.1073/pnas.1323073111)
- 17 Zohner C.M., Mo L.D., Renner S.S. Global warming reduces leaf-out and flowering synchrony among individuals // eLife Sciences. —2018. —Vol. 7. —P. e40214. doi: [10.7554/eLife.40214](https://doi.org/10.7554/eLife.40214)
- 18 Ежегодный бюллетень мониторинга изменения и состояния климата Казахстана: 2013 год. —Астана: Республиканское государственное предприятие «Казгидромет», 2014. —55 с.
- 19 Zhang H., Yuan W., Liu Sh., Dong W., Fu Y. Sensitivity of flowering phenology to changing temperature in China // JGR: Biogeosciences. —2015. —Vol.120, Is. 8. —P. 1658-1665. doi: [10.1002/2015JG003112](https://doi.org/10.1002/2015JG003112).
- 20 Ежегодный бюллетень мониторинга изменения и состояния климата Казахстана: 2016 год. —Астана: Республиканское государственное предприятие «Казгидромет», 2017. —58 с.

Н.М. Сафронова, О.Н. Бабенко

Ш. Уәлиханов атындағы Көкшетау мемлекеттік университеті, Көкшетау, Қазақстан

Көкшетау қаласы төңірегіндегі кейбір жабайы өсімдіктер түрлерінің гүлдену фенологиясындағы өзгеріс

Аңдатпа: Соңғы 30-45 жыл ішінде Ақмола облысында климаттық факторлардың өзгеруі байқалады (орташа жылдық температураның, жауын-шашынның және т.б. артуы). Биологиялық құбылыстардың маусымдылығы, фенологиясы осындай өзгерістерге тікелей тәуелді келеді. 2013, 2016 және 2018 жылдардың қыркүйек айының соңғы онкүндігінде жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Көкшетау қаласының төңірегінде кездесетін өсімдіктердің 37 түрінің гүлденгені анықталды, олардың басым бөлігінің гүлденуі осы кезеңге тән емес еді. Табылған гүлденген өсімдіктердің 70% - да гүлдену фенологиясында елеулі өзгерістер көрінді, ал кейбір түрлерінде қайта гүлдену байқалды. Сонымен қатар гүлдену кезеңінің ұзару жағдайлары да тіркелген. Мақалада жабайы өсімдіктердің кейбір түрлерінің гүлдену фенологиясындағы өзгерістері мен климаттық факторлар арасындағы байланыс талқыланады.

Түйін сөздер: гүлдену мерзімі, қайта гүлдену, жабайы өсетін өсімдіктер, түрлік құрамы, климаттық факторлар, Көкшетау қаласының төңірегі.

N.M. Safronova, O.N. Babenko

Sh. Ualikhanov Kokshetau State University, Kokshetau, Kazakhstan

Shifts in flowering phenology of some plant species in the surroundings of Kokshetau city

Abstract: Over the last 30-45 years, changes in some characteristics of climatic factors have been observed in the Akmola region (increase in average annual temperature, rainfall, etc.). Seasonality of biological phenomena, phenology, is directly dependent on such changes. In the course of studies conducted in the last decade of September 2013, 2016 and 2018, in the area surrounding Kokshetau city, 37 species of flowering wild plants were found, flowering of most of which were not typical of this period. In 70% of the detected flowering plants, significant shifts in flowering phenology were observed, and in some species, re-flowering was observed. There have also been registered cases of increased flowering time. The article discusses the relationship between shifts in the phenology of flowering of some wild plant species with climatic factors.

Keywords: timing of flowering, re-flowering, wild plants, species composition, climatic factors, the area surrounding Kokshetau city

References

- 1 Körner C., Basler D. Phenology under global warming, Science, 327, (5972), 1461-1462 (2010).
- 2 Renner S.S., Zohner C.M. Climate change and phenological mismatch in trophic interactions among plants, insects, and vertebrates, Ann. Rev. Ecol., Evol., Syst., 49, 165-182 (2018).
- 3 Baltabaeva D.B., Bogolyubova E.V. Analiz statisticheskikh harakteristik klimaticheskikh parametrov v Tsentralnom Kazahstane, v Akmolinskoy oblasti [Analysis of the statistical characteristics of climatic parameters in Central Kazakhstan, in the Akmola region], Vestnik KazNU. Seriya geograficheskaya [Bulletin of KazNU. Geographical series], 1(34), 78-89 (2012). [in Russian]
- 4 Kanitaveva K.P., Abdrakhmanova G.A., Shalaginova R.A. Prirodnyie usloviya i istoricheskie protsessy sotsialno-ekonomicheskogo razvitiya goroda Kokshetau: analiticheskiy obzor [Natural conditions and historical processes of socio-economic development of the city of Kokshetau: an analytical review] (Kokshetauskiy filial AO «Natsionalnyi tsentr NTI» [Kokshetau branch of JSC National Center for Scientific and Technical Information], Kokshetau, 2009). [in Russian]
- 5 Fedorovich B.A. Prirodnoe rayonirovanie Severnogo Kazahstana: (Kustanayskaya, Severo-Kazahstanskaya, Kokchetavskaya, Akmolinskaya i Pavlodarskaya oblasti) [Natural zoning of Northern Kazakhstan: (Kustanai, North Kazakhstan, Kokchetav, Akmola and Pavlodar regions)] (Izdatelstvo AN SSSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR], Moscow- Leningrad, 1960). [in Russian]
- 6 Gvozdetzky N.A., Mamai I.I. Prirodnoe rayonirovanie Severnogo Kazahstana [Natural Regionalization of Northern Kazakhstan], Vestnik Akademii nauk SSSR [Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR], 4, 142-145 (1961). [in Russian]
- 7 Alekhin V.V., Syreyshchikov D.P. Metodika polevyih botanicheskikh issledovaniy [Field Botanical Research Methodology] (Severnyiy pechatnik [Northern printer], Vologda, 1926). [in Russian]
- 8 Artaev O.N., Bashmakov D.I., Bezina O.V. Metodyi polevyih ekologicheskikh issledovaniy [Field Ecological Research Methods]. (Izdatelstvo Mordovskogo Universiteta [Publisher Mordovia University], Saransk, 2014) [in Russian]
- 9 Vasilyeva A.N. Semeystvo Krestotsvetnyie – Cruciferae Juss. [Family Cruciferae Juss.] V kn. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan] (Izdatelstvo Akademii nauk Kazahskoy SSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR], Alma-Ata, 1961). [in Russian]
- 10 Baytenov M.B. Rod Potentilla L. [Genus Potentilla L.] V kn. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan] (Izdatelstvo Akademii nauk Kazahskoy SSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR], Alma-Ata, 1961). [in Russian]
- 11 Orazova A.C. Rod Leonurus L. [Genus Leonurus L.] V kn. Flora Kazahstana [Flora of Kazakhstan] (Izdatelstvo Akademii nauk Kazahskoy SSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR], Alma-Ata, 1961). [in Russian]

- 12 Abdulina S.A. Spisok sosudistyyh rasteniy Kazakhstana [List of vascular plants of Kazakhstan] (Almaty, 1999) [in Russian]
- 13 Roldugin I.I. Semeystvo Vorsyankovyie. – Dipsacaceae Lindl. [Family Dipsacaceae Lindl.] V kn. Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan] (Izdatelstvo Akademii nauk Kazahskoy SSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR], Alma-Ata, 1965). [in Russian]
- 14 Pavlov N.V., Bykov B.A., Kubanskaya Z.V. Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan] (Izdatelstvo Akademii nauk Kazahskoy SSR [Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR], Alma-Ata, 1961). [in Russian]
- 15 Fitter A.H., Fitter R.S. Rapid changes in flowering time in British plants, *Science*, 296,(5573), 1689-1691 doi: 10.1126/science.1071617 (2014) .
- 16 CaraDonna P.J., Iler A.M., Inouye D.W. Shifts in flowering phenology reshape a subalpine plant community// *PNAS*. – 2014. – Vol. 111. – P. 4916–4921. doi: 10.1073/pnas.1323073111.
- 17 Zohner C.M., Mo L.D., Renner S.S. Global warming reduces leaf-out and flowering synchrony among individuals, *eLife Sciences*, 7, e40214. doi: 10.7554/eLife.40214 (2018).
- 18 Ezhegodnyiy byulleten monitoringa izmeneniya i sostoyaniya klimata Kazakhstana: 2013 god. [Annual bulletin of monitoring changes and the state of climate in Kazakhstan: 2013] (Respublikanskoe gosudarstvennoe predpriyatie «Kazgidromet» [Republican State Enterprise «Kazgidromet»], Astana, 2014). [in Russian]
- 19 Zhang H., Yuan W., Liu Sh., Dong W., Fu Y. Sensitivity of flowering phenology to changing temperature in China, *JGR: Biogeosciences* 120,(8),1658-1665. doi: 10.1002/2015JG003112(2015).
- 20 Ezhegodnyiy byulleten monitoringa izmeneniya i sostoyaniya klimata Kazakhstana: 2016 god. [Annual bulletin of monitoring changes and the state of climate in Kazakhstan: 2016] (Respublikanskoe gosudarstvennoe predpriyatie «Kazgidromet» [Republican State Enterprise «Kazgidromet»], Astana, 2017). [in Russian]

Сведения об авторах:

Сафронова Н.М. - кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и методики преподавания, Кокшетауский государственный университет имени Ш. Уалиханова, ул. Абая 76, корпус №1, Кокшетау, Казахстан.

Бабенко О.Н. - PhD, старший преподаватель кафедры биологии и методики преподавания, Кокшетауский государственный университет имени Ш. Уалиханова, ул. Абая 76, корпус №1, Кокшетау, Казахстан.

Safronova N.M. - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Teaching Methods, Sh. Ualihanov Kokshetau State University, Abay st., 76, building №1, Kokshetau, Kazakhstan.

Babenko O.N. - PhD in Biology, Senior Lecturer of the Department of Biology and Teaching Methods, Sh. Ualihanov Kokshetau State University, Abay st., 76, building №1, Kokshetau, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 27.09.2019

L.R. Sutuyeva, T.M. Shalakhmetova

al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
(E-mail: *s_leila_aktau@mail.ru, tamara.shalakhmetova@kaznu.kz*)

Morphological Deformities of Green Toad (*Bufo viridis*) Tadpoles Caused by Petroleum Products

Abstract: Environmental pollution with oil and petroleum products leads to a decrease in animal biodiversity and human diseases. Due to the intense pollution of Kazakhstan's water bodies located on the territory of oil producing regions, the purpose of this study was to study the effect of different concentrations of water-soluble fraction of oil (WSFO) on the growth and development of green toad (*Bufo viridis*). This species of anuran amphibians is widespread in Kazakhstan, which is especially important given the aridity of the lands of the oil-producing regions. A subchronic and chronic exposure to three concentrations of WSFO on the tadpoles of the green toad (*Bufo viridis*) was carried out. The results of the study revealed suppression of growth (size and weight) and a developmental delay in tadpoles from experimental groups by 1.6-1.8-fold. Moreover, developmental malformations such as axial curvature, edema, tail malformation, head malformations, pigmentation alteration were observed. Thus, exposure to WSFO suppresses the growth and development of the green toad *Bufo viridis*.

Keywords: water-soluble fraction of oil, *Bufo viridis*, growth, development, morphological deformities

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2019-128-3-100-110>

Introduction. Decline in amphibian populations has become a global problem and attention of many researches is focused on search of the causes of this decline [1]. The reasons may be various from habitat deterioration to the increase in the level of UV radiation [1, 2]. Anthropogenic activities such as oil production result in contamination of natural habitats [3]. Petroleum hydrocarbons have negative effects on ecosystems including aquatic habitats [4]. The economy of Kazakhstan is based on oil production [5] and development of this industry leads to deterioration of the ecosystems [3]. Petroleum contamination is one of the reasons of the decreases in animal populations and biodiversity [6]. National ecological reports [7] show significant pollution of many water bodies of Kazakhstan with petroleum hydrocarbons. However, toxicological studies of oil and petroleum products in Kazakhstan are usually limited to investigation of rodents [8-12]. Thus, there is a need in studying effects of petroleum contamination on animals of the aquatic ecosystems, such as amphibians. They are a convenient model for ecotoxicological studies as they live both in water and on land during their life cycle [13, 14]. Moreover, their biological features make them sensitive to chemical contamination especially in their embryonic and larval stages [15]. The green toad (*Bufo viridis*) is one of the widespread amphibian species in Kazakhstan. It inhabits most areas of Kazakhstan, including oil producing regions [16]. Its wide distribution on Kazakhstan territory makes it suitable model for assessing environmental effects of petroleum products.

There are many studies worldwide devoted to investigation of oil and petroleum influence on amphibian larvae. Various chemicals affect survival and growth rate, and induce malformations in developing amphibians [17]. High mortality rates and significant delay in growth and development of *L. sylvaticus* was observed following exposure to naphthenic acids [18]. Exposure to fluoranthene (PAH) resulted in occurrence of severe malformations and low survival rate in *X. laevis* and *L. pipiens* [19]. However, there are few studies on the effects of petroleum products on larvae of green toad (*Bufo viridis*). Further, little research was conducted to determine the effects of oil from Kazakhstan on amphibians.

The aim of this study was to examine the growth and development of green toad (*Bufo viridis*) in water contaminated with petroleum products by means of subchronic and chronic exposure to various concentrations of water-soluble fraction of crude oil.

Materials and methods

Preparation of Water-Soluble Fraction of Oil. Preparation of water-soluble fraction of oil (WSFO) was carried out according to [20], taking into account the recommendations of [21]. Crude oil from the Zhanazhol oil field (Aktobe region of the western part of the Republic of Kazakhstan) was mixed with water in a 1:9 ratio (100 ml oil per 900 ml distilled water). The resulting mixture was placed in a 1 L flask with a tightly closed stopper and stirred on a magnetic stirrer in the dark for 18 hr avoiding deterioration of the oil film integrity and emulsification. After stirring, the resulting mixture was allowed to stand at room temperature for 6 hr. Further, the water-soluble fraction was extracted using a separatory funnel and stored at 4 °C. Before use in exposure experiments, the water-soluble fraction was acclimated to room temperature (21-23 °C).

Obtaining the eggs of *B. viridis*. Six mature specimens of *B. viridis* (4 males and 2 females) were caught from the river Emba (Aktobe region, The Republic of Kazakhstan) and brought to the Ecotoxicology Laboratory of the Faculty of Biology and Biotechnology of the Al-Farabi Kazakh National University. Adult males and females were placed separately in 100 L aquaria with dry surface and smaller reservoir with water. The air temperature was maintained at 24 ± 2 °C. Toads were fed crickets and kept for two weeks to acclimatize before induction of spawning. For this purpose both males and females were injected ($5 \mu\text{l/g}$ of body weight) with the AMPHIPLEX mixture of a gonadotropin-releasing hormone agonist ($0.4 \mu\text{g/g}$) and metoclopramide ($10 \mu\text{g/g}$) according to the procedure described by Trudeau et al. [22] except drugs were dissolved in saline. Adult frogs were divided into groups of 3 individuals (2 males and 1 female) into separate 50 L aquaria with algae and branches to simulate natural spawning conditions (2 aquaria in total). After 2-3 days, the fertilized eggs were obtained. For experiments on embryotoxicity of WSFO, the eggs were placed in Petri dishes after they reached the Gosner stage (Gs) 8-11. For a chronic experiment, the tadpoles were moved to the 18 L aquaria, when they all began to feed and swim independently (Gs 26).

Subchronic Exposure Experiments. To examine the effects of petroleum products on early life stages of *B. viridis* its eggs were exposed to three concentrations of WSFO (0.05 mg/L, 0.5 mg/L, and 1.5 mg/L). The concentrations were chosen according to maximum permissible concentrations of oil hydrocarbons in water (MPCW) accepted in the Republic of Kazakhstan [23]. In our study, we used concentrations equal to MPCW (0.05 mg/L), and exceeding it by 10-fold (0.5 mg/L) and 30-fold (1.5 mg/L). *B. viridis* embryos were divided into 8 groups: control (dechlorinated water), WSFO and o-xylene at concentrations of 0.05 mg/L, 0.5 mg/L, and 1.5 mg/L. Each group consisted of 15 eggs at the Gs 8-11 stage in a Petri dish containing 15 ml of the corresponding medium: dechlorinated water (control), ethanol (solvent control), WSFO. Four replicates were set for each group (60 embryos in total for each group of the experiment). Embryos in each group were incubated at 23 ± 2 °C for 7 days. The dishes were examined every 24 hours to identify and remove dead embryos and larvae, and to replace the media. The mortality was recorded daily. On day 7, the surviving larvae were euthanized in a buffered solution of the MS-222 anesthetic (Tricaine Methane Sulfonate; Sigma Aldrich) and fixed in formalin, and then examined for developmental disorders using a stereoscopic microscope (Motic DM 143, China).

Chronic Exposure Experiments. Chronic effects of WSFO on tadpoles of *B. viridis* were performed for 60 days. For the experiment, tadpoles capable of independent swimming and feeding were selected which corresponds to Gs 26 stage. Tadpoles were exposed to control (dechlorinated water) and 0.05 mg/L, 0.5 mg/L, and 1.5 mg/L WSFO. There were three replicates for each treatment group, each containing fifteen tadpoles. The tadpoles were placed into 18 L aquaria filled with 15 L of aerated dechlorinated water ($t = 23 \pm 2$ °C), and the appropriate concentrations of WSFO were added. The tadpoles were fed boiled lettuce and seaweed each day, *ad libitum*, and feces and food waste were removed daily. The water was replaced every two days, followed by the addition of appropriate concentrations of WSFO and o-xylene. At the end of the experiment (60 days), tadpoles were euthanized in a buffered solution of the MS-222 anesthetic (Tricaine Methane Sulfonate; Sigma Aldrich), weighed, photographed using a stereoscopic microscope (Motic DM 143, China) to measure the morphometric parameters (snout-vent length (SVL), and total body length). In addition, the occurrence of morphological abnormalities was also noted.

Statistical analyses. Data were analyzed for statistical significance with Fisher's exact test and one-way ANOVA using SPSS version 23 (IBM Inc., Chicago, USA), with α set as 0.05. To compare the survival rates in the control and experimental groups the Fisher's exact test was used. The morphometric measurements (SVL, total body length), and developmental stage (Gs), at the time of sampling were analyzed with one-way ANOVA followed by post-hoc test. The data were normally distributed (Levene's test). All data are presented as mean $\pm$ SEM.

Results

Subchronic Exposure to WSFO

Exposure to WSFO caused high mortality of *B. viridis* embryos (Figure 1) compared to control. Mortality of embryos in groups 0.05, 0.5, and 1.5 mg/L at the end of the experiment (168 hr) was 23, 37 and 52%, respectively.

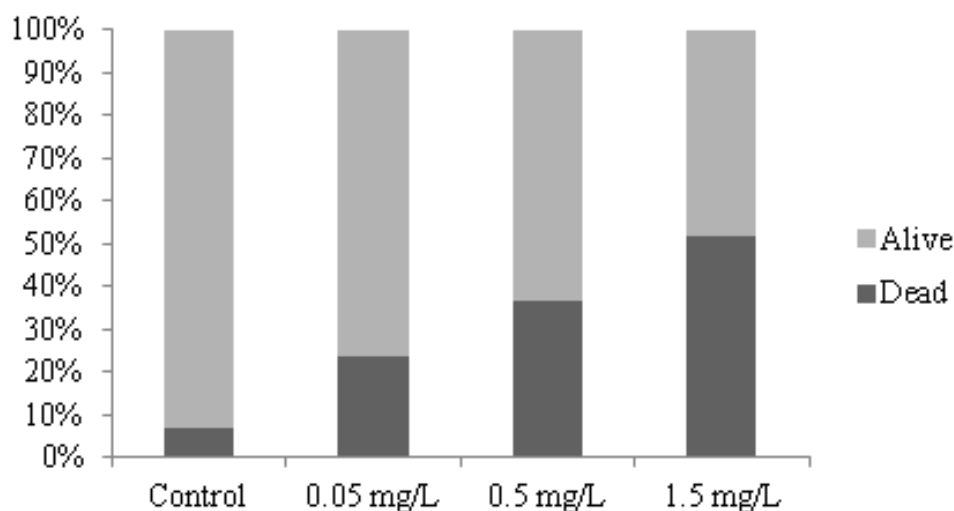


FIGURE 1 – Survival rate of *B. viridis* embryos exposed to WSFO for 7 days

Survived tadpoles in treatment groups had multiple morphological alterations (Figure 2). Dose-dependent effect was observed where the number of tadpoles with malformations raised from low (0.05 mg/L) to medium (0.5 mg/L) and high (1.5 mg/L) concentration groups (Figure 3). The most frequent observed malformations were axial curvature and edema.

Tadpoles from 0.05 mg/L group had the lowest level of abnormalities among treatment groups, and that level did not differ markedly from control. In 0.5 mg/L treatment group 38% of tadpoles had axial curvature, 21% of which also had edema and 7% had gut malformations, 13% had visceral edemas, 11% had different types of head malformations, including microphthalmia, mouth malformation, and eye malformation. There were also a few tadpoles with pigmentation alteration (Figure 2f). In 1.5 mg/L treatment group 14% of tadpoles had no malformations, 57% had axial curvature combined with edemas, 23% of which also had gut malformations, 19% had head malformations.

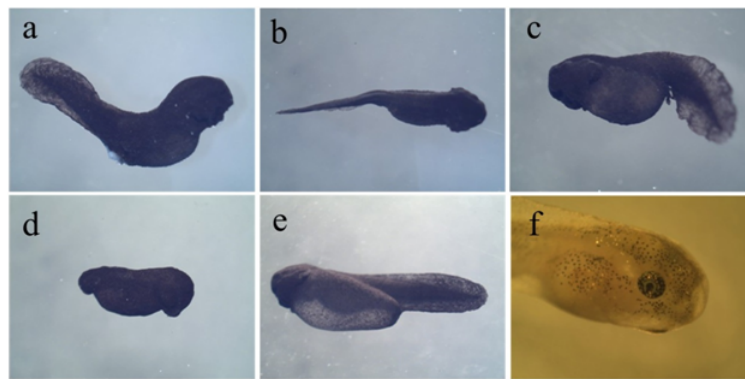


FIGURE 2 – Morphological abnormalities in *B. viridis* tadpoles subchronically (7 days) exposed to WSFO: a -axial curvature (0.5 mg/L); b - axial curvature (0.05 mg/L); c - axial curvature and edema (1.5 mg/L); d – tail malformation and edema (1.5 mg/L); e – severe visceral edema (0.5 mg/L); f - pigmentation alteration (1.5 mg/L)

Chronic Exposure to WSFO

Survival rate was high among all experimental groups, except the highest concentration group (1.5 mg/L). Mortality was found to be 3% in control, 5% in 0.05 mg/L, 9% in 0.5 mg/L, and 22% in 1.5 mg/L. However, there were alterations in weight, SVL, total body length, developmental stage between treatment groups and control, especially when high concentration groups.

Similarly to results of subchronic experiments tadpoles from 0.05 mg/L WSFO group were not markedly different from control in all examined parameters. Tadpoles exposed to 0.5 or 1.5 mg/L WSFO during 60 days demonstrated a significantly lower weight compared to control (Figure 3).

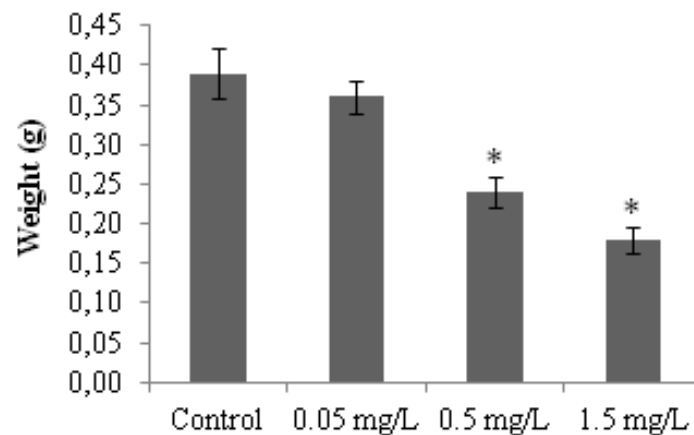


FIGURE 3 – Weight of *B. viridis* tadpoles chronically (60 days) exposed to WSFO. Stars indicate $p < 0.01$

SVL and total body length measurements (Figure 4a, b) exhibited a noticeable decrease in the WSFO compared with control. Tadpoles from 0.5 or 1.5 mg/L groups were markedly smaller 1.4-fold and 1.8-fold compared to control, respectively. Developmental rate of tadpoles in 0.5 and 1.5 mg/L treatments was delayed by 5 and 8 stages, respectively (Figure 4c).

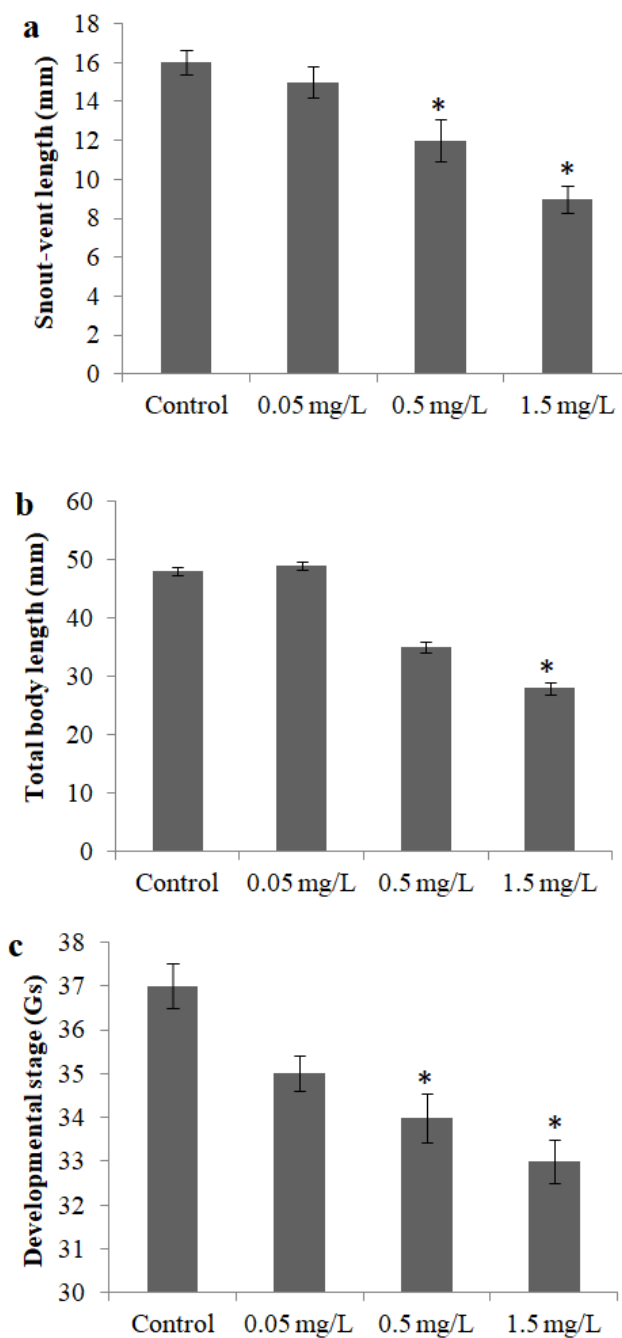


FIGURE 4 – SVL (a), total body length (b) and developmental stage (c) of *B. viridis* tadpoles chronically (60 days) exposed to WSFO. Stars indicate $p < 0.01$

Moreover, several tadpoles with axial curvature and visceral edema were observed (Figure 5).



FIGURE 5 – Tadpole with axial curvature

Discussion. Our data revealed that environmentally relevant concentrations of WSFO lead to a dose-dependent increase in mortality rate in *B. viridis* embryos. It was shown that PAHs, such as fluoranthene induce mortality in *X. laevis*, *L. pipiens* and *A. maculatum* tadpoles [19]. Low concentrations of commercial naphthenic acids also caused decrease in survival rate in *L. sylvaticus* tadpoles [24]. Different pollutants demonstrate similar effects in other aquatic animals, such as amphipods [4]; mollusks [25], crustaceans [26], and fish [27, 28]. The sensitivity of *B. viridis* embryos to petroleum products impact may be due to the fact that this species lays eggs in small ponds, and embryos and tadpoles are not able to escape from a water body with unfavorable conditions [29]. The morphological deformities of *B. viridis* larvae detected in the present study are similar to those found in other species of amphibians. In all species the most common malformations are developmental delay, axial curvature, gut deformities and edema [30-33]. There were several tadpoles in chronic experiment with axial curvature and edemas. Those tadpoles could not swim normally, mostly floated at the surface, and in case of fear they could only swim in circles. In nature tadpoles with this kind of abnormalities would become prey much earlier than healthy ones. Furthermore, it is notable that negative effects became more pronounced with growth of treatment concentrations. Moreover, it should be marked that tadpoles from chronic experiments were more resistant to WSFO contamination than those from subchronic experiments which can be seen from the results of survival rate measurement. It was shown that embryos and larvae of fish are more sensitive to toxic action of pollutants than juvenile and adult individuals [34]. Our data indicate similarity in amphibians.

The dose-dependent delay of *B. viridis* in growth was observed in chronic experiment where tadpoles demonstrated decrease in weight and linear parameters (SVL, total body length) between 0.05 and 1.5 mg/L WSFO. Furthermore, tadpoles in groups 0.5 and 1.5 mg/L showed developmental delay by 5-8 stages. Growth inhibition is one of the first responses to contamination in aquatic organisms as a need to compensate increased stress. This is not a specific indicator for petroleum products effects, but it is believed to be one of the most sensitive markers [33, 35, 36]. Moreover, some species may be more sensitive, and the composition of particular oil may play a significant role. Hydrophobicity is the main factor for availability of oil components for hydrobions [29]. According to Erickson et al. [35], highly soluble hydrocarbons with low hydrophobicity are most accessible to aquatic organisms, while hydrocarbons with higher hydrophobicity exhibit a greater affinity for organic substances contained in sediments, which results in secondary water contamination.

The results of this work show that disruption of growth and development of amphibians tadpoles is an important indicator of environmental pollution. The increased mortality frequency is a general response of embryos and larvae to contamination with petroleum products, which indicates an adverse effect attributed to contaminants.

Conclusions. Data obtained in this work showed embryotoxic and teratogenic effects of WSFO from the Zhanazhol oil field (Aktobe region, Kazakhstan) on green toad (*B. viridis*). Subchronic experiments (7 days) demonstrated that *B. viridis* embryos and larvae are highly sensitive to petroleum contamination which is proved with high mortality and morphological deformities rate. Chronic exposure to WSFO (60 days) resulted in growth inhibition and developmental delay.

References

- 1 Beebee T.J.C., Griffiths R.A. The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? // Biol. Cons. – 2005. – Vol. 125. – P. 271-285.
- 2 Collins J.P., Storfer A. Global amphibian declines: sorting the hypotheses // Diversity and Distributions - 2003.- Vol.9. – P. 89-98.
- 3 Askarova M.A., Mussagaliyeva A.N. The ecological situation in contaminated areas of oil and gas exploration in Atyrau region //Procedia - Social and Behavioral Sciences. -2014. – Vol.120. – P. 455–459. doi:10.1016/j.sbspro.2014.02.124.
- 4 Neuparth T., Capela R., Pereira S.P.P., Moreira S.M., Santos M.M., Reis-Henriques M.A. Toxicity Effects of Hazardous and Noxious Substances (HNS) to Marine Organisms: Acute and Chronic Toxicity of p-Xylene to the Amphipod *Gammarus locusta* // Journal of Toxicology and Environmental Health A. -2014. – Vol. 77. –P. 1210-1221. doi: 10.1080/15287394.2014.921867.
- 5 Akhmadi Invest. The share of the oil and gas industry in Kazakhstan's GDP decreased from 25% to 17%. [Electron. resource]. - 2016. – URL: <http://www.akhmadi-invest.com/2016/06/15/dolya-neftegazovoj-otrasli-v-vvp-kazaxstana-snizilas-s-25-do-17/> (accessed May 23, 2018)
- 6 Kolesnikov S.I., Spivakova N.A., Vezdeneeva L.S., Kuznetsova Yu.S., Kazeev K.Sh. Modeling the Effect of chemical pollution on biological properties of hydromorphic solonchaks in the dry steppe zone of Southern Russia // Arid Ecosystems. -2011. – Vol.1. – P. 83–86. doi:10.1134/S207909611102003X.
- 7 Unified Environmental Internet Resource. Information bulletins on the state of the environment of The Republic of Kazakhstan. – 2018. – URL: <http://ecogofond.kz/orhusskaja-konvencija/dostup-k-jekologicheskoi-informacii/jekologijaly-zha-daj/orsha-an-otrany-zhaj-k-ji-turaly-a-paratty-bjulletender> (accessed May 30, 2018)
- 8 Mahmoud K.E., Shalakhmetova T.M., Umbyev B.A. Short term effects of crude oil, vanadium and nickel intoxication on rats liver antioxidant defence system. // KazNU Bulletin. Biology series.- 2012. – Vol. 2. – P. 32-37.
- 9 Shalakhmetova T.M., Mahmoud K.E., Umbyev B.A. Biochemical changes in male albino rats following single exposure to crude oil and ciprofloxacin. // KazNU Bulletin. Ecology Series.- 2012. – Vol. 34. – P. 87-93.
- 10 Shametov A.K., A.N. Kozhakhmetova, A.B. Bigaliev, R.K. Bigalieva, and B.O. Bekmanov. Molekulyarno-geneticheskie issledovaniya gryzunov iz zony hvostohranilishcha Koshkar-ata [Molecular genetic studies of rodents from the area of the tailings Koshkar-Ata], Sovremennyye problem nauki obrazovaniya [Contemporary Problems of Science and Education], **2**, 559-566 2015 [in Russian]
- 11 Shalakhmetova T.M., Suvorova M.A., Sutuyeva L.R., Ondassynova A.S., Zhankulova M.S., Mukhatayeva K.A. Toksiko-ekologicheskoe issledovanie fonovykh vidov zhivotnykh, obitayushih na territorii Kyzylordinskoi oblasti, prilegayushei k mestorozhdeniyu Kumkol' [Toxic-ecological research of background animal species of Kyzylorda region territories adjacent to the Kumkol oilfield], Vestnik KazNU. Seriya Ekologicheskaya [KazNU Bulletin. Ecology Series], **45**, 276-283 2015 [in Russian]
- 12 Suvorova M.A., Shalakhmetova T.M., Sutuyeva L.R., Ondassynova A.S., Zhankulova M.S., and Imankulova R. Ingalyatsionnoe deystvie parov syroi nefti mestorozhdeniya Kumkol' na kris [The inhalation effects of vapors of crude oil from the Kumkol fields in rats], Vestnik KazNU. Seriya Ekologicheskaya [KazNU Bulletin. Ecology Series], **45**, 284-291 (??) [in Russian]
- 13 Wyman R.L. What's happening to the amphibians? // Conserv. Biol. – 1990. – Vol. 4. – P. 350-352.
- 14 Lips K.R. Decline of a tropical montane amphibian fauna // Conserv. Biol. – 1998. – Vol. 12. – P. 106-117.
- 15 Murphy J.E., Phillips C.A., Beasley V.R. Aspects of Amphibian Ecology /D. W.Sparling, G.Linder and C.A.Bishop// Ecotoxicology of amphibians and reptiles / Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). - Pensacola, FL, 2000. – P. 141-179.
- 16 Duysebaeva T.N., Berezovikov N.N., Brushko Z.K., Kubykin R.A., Khromov V.A. Ozeraja ljagushka (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) v Kazahstane: izmenenie areala v XX stoletii i sovremennoe rasprostranenie vida [Marsh frog (*Rana Ridibunda* Pallas, 1771) in Kazakhstan: Range changing and recent distribution], Sovremennaja gerpetologiya [Contemporary Herpetology], **3**, 29-59 2005 [in Russian]
- 17 Sparling D.W. Ecotoxicology of organic contaminants to amphibians / Sparling D. W., G. Linder, C. A. Bishop, and S. K. Krest // Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles. 2nd. ed. / SETAC Press. – Pensacola, FL, 2010. – P. 261-288.
- 18 Melvin S.D., Trudeau V.L. Toxicity of naphthenic acids to wood frog tadpoles (*Lithobates sylvaticus*) // Journal of Toxicology and Environmental Health A. -2012. – Vol.75. – P. 170–173. doi:10.1080/15287394.2012.640092.
- 19 Hatch A.C., Burton, Jr. G.A. Effects of photoinduced toxicity of fluoranthene on amphibian embryos and larvae // Environmental Toxicology and Chemistry. - 1998. – Vol. 9. – P. 1777-1785. doi: 10.1002/etc.5620170918.

- 20 Anderson J.W., Neff J.M., Cox B.A., Tatem H.E., Hightower G.M. Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish // *Marine Biology*. - 1974. - Vol.27. - P. 75–88. doi:10.1007/BF00394763.
- 21 Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clark J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing // *Marine Pollution Bulletin*. - 2000. - Vol. 40. - P. 1007–1016. doi:10.1016/S0025-326X0000045-X.
- 22 Trudeau V.L., Somoza G.M., Natale G.S., Pauli B., Wignall J., Jackman P., Doe K., Schueler F.W. Hormonal induction of spawning in 4 species of frogs by coinjection with a gonadotropin-releasing hormone agonist and a dopamine antagonist // *Reproductive Biology and Endocrinology*. -2010. -Vol. 8. - P. 2–10. doi:10.1186/1477-7827-8-36.
- 23 Perechen' predel'no dopustimyh koncentracij (PDK) i orientirovochno bezopasnyh urovnej vozdejstviya (OBUV) vrednyh veshhestv dlja vody vodnyh objektov, imejushih rybohozajstvennoe znachenie [List of maximum permissible concentrations (MPCs) and approximately safe levels of exposure (ASLE) of hazardous substances for water in fishery reservoirs]. - M.: 1990, 49 p.
- 24 Melvin S.D., Lanctôt C.M., Craig P.M., Moon Th.W., Peru K.M., Headley J.V., Trudeau V.L. Effects of naphthenic acid exposure on development and liver metabolic processes in anuran tadpoles // *Environmental Pollution*. - 2013. - Vol. 177. - P. 22–27. doi:10.1016/j.envpol.2013.02.003.
- 25 Wessel N., Rousseau S., Caisey X., Quiniou F., Akcha F. Investigating the relationship between embryotoxic and genotoxic effects of benzo[a]pyrene, 17 α -ethinylestradiol and endosulfan on *Crassostrea gigas* embryos // *Aquatic Toxicology*. - 2007. - Vol. 85. - P. 133–142. doi:10.1016/j.aquatox.2007.08.007.
- 26 Hansen B.H., Salaberria I., Olsen A.J., Read K.E., Overjordet I.B., Hammer K.M., Altin D., Nordtug T. Reproduction dynamics in Copepods following exposure to chemically and mechanically dispersed crude oil // *Environmental Science and Technology*. - 2015. -Vol. 49. - P. 3822–3829. doi:10.1021/es504903k.
- 27 Marentette J.R., Frank R.A., Bartlett A.J., Gillis P.L., Hewitt L.M., Peru K.M., Headley J.V., Brunswick P., Shang D., Parrott J.L. Toxicity of naphthenic acid fraction components extracted from fresh and aged oil sands process-affected waters, and commercial naphthenic acid mixtures, to fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos // *Aquatic Toxicology*. - 2015. - Vol. 164. - P. 108–117. doi:10.1016/j.aquatox.2015.04.024.
- 28 Pampanin D.M., Le Goff J., Skogland K., Marcucci C.K., Шысжд K.B., Lorentzen M., Jørgensen K.B., Sydnæs M.O. Biological effects of PAHs and their first metabolic products in vivo exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) // *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. - 2016. - Vol. 79, - P. 633–646. doi: 10.1080/15287394.2016.1171993.
- 29 Mahaney P.A. Effects of freshwater petroleum contamination on amphibian hatching and metamorphosis // *Environmental Toxicology and Chemistry*. - 1994. - Vol. 13. - P. 259–265. doi:10.1002/etc.5620130210.
- 30 Park C.J., Song S.H., Kim D.H., Gye M.C. Developmental and acute toxicity of cetylpyridinium chloride in *Bombina orientalis* (Amphibia: Anura) // *Aquatic Toxicology*. - 2016. - Vol. 177. - P. 446–53. doi:10.1016/j.aquatox.2016.06.022.
- 31 Ghodageri M.G., Pancharatna K. Morphological and behavioral alterations induced by endocrine disrupters in amphibian tadpoles // *Toxicological & Environmental Chemistry*. - 2011. - Vol.93. - P. 2012–2021. doi:10.1080/02772248.2011.621595.
- 32 Peltzer P.M., Lajmanovich R. C., Attademo A. M., Junges C. M., Cabagna-Zenklusen M. C., Repetti M. R., Sigríst M. E., Beldomñico H. Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. - 2013. - Vol. 98. - P. 142–151. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.09.010.
- 33 Brunelli E., Bernabè I., Berg C., Lundstedt-Enkel K., Bonacci A., Tripepi S. Environmentally relevant concentrations of endosulfan impair development, metamorphosis and behaviour in *Bufo bufo* tadpoles // *Aquatic Toxicology*. - 2009. - Vol. 91. - P. 135–142. doi:10.1016/j.aquatox.2008.09.006.
- 34 McIntosh S., King T., Wu D., Hodson P.V. Toxicity of dispersed weathered crude oil to early life stages of Atlantic herring (*Clupea harengus*) // *Environmental Toxicology and Chemistry*. - 2010. - Vol. 29. - P. 1160–1167. doi: 10.1002/etc.134.
- 35 Erickson R.J., Nichols J.W., Cook P.M., Ankley G.T. Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems / R.T. Di Giulio and D.E. Hinton // *The Toxicology of Fishes* / CRC Press. - Boca Raton, 2008. - P. 9–54
- 36 Richards S.M., Kendall R.J. Physical effects of chlorpyrifos on two stages of *Xenopus laevis* // *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. - 2003. - Vol. 66. - P. 75–91. doi: 10.1080/15287390390155769.

Л.Р. Сутуева, Т.М. Шалахметова

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

Морфологические нарушения головастика зеленой жабы (*Bufo viridis*), вызванные нефтепродуктами

Аннотация: Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами приводит к снижению биоразнообразия животных и заболеваемости человека. В связи с интенсивным загрязнением водоемов Казахстана, расположенных на территории нефтедобывающих регионов, целью данного исследования было изучение влияния различных концентраций водорастворимой фракции нефти (ВРФН) на рост и развитие зеленой жабы (*Bufo viridis*). Этот вид бесхвостых земноводных широко распространен в Казахстане, что особенно важно с учетом засухливости земель нефтедобывающих районов. Было проведено исследование по субхроническому и хроническому воздействию трех концентраций ВРФН на

головастики зеленой жабы (*Bufo viridis*). Результаты исследования выявили подавление роста (размер и вес) и задержку развития у головастиков из экспериментальных групп в 1,6-1,8 раза. Кроме того, наблюдались пороки развития, такие как искривление позвоночника, отек, нарушение развития хвоста, головы, изменение пигментации. Таким образом, воздействие ВРФН подавляет рост и развитие зеленой жабы (*Bufo viridis*).

Ключевые слова: водорастворимая фракция нефти, *Bufo viridis*, рост, развитие, морфологические деформации.

Л.Р. Сутуева, Т.М. Шалахметова

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

Мұнай өнімдерімен қоздырылған бақабастардың (*Bufo viridis*) морфологиялық бұзушылықтары

Аңдатпа: Қоршаған ортаның мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы жануарлар биоалуантүрліліктің төмендеуі мен адамдардың ауруға ұшырауына әкеледі. Осы зерттеудің мақсаты Қазақстанның мұнай шығаратын аймақтардың су айдындары күрт ластануына байланысты, әртүрлі концентрацияларда мұнайдың су ерігіш фракциялардың (МСЕФ) жасыл бақаның (*Bufo viridis*) өсуі мен дамуына әсерін зерттеу. Бұл аса маңызды мұнай шығаратын аудандардың құрғақшылығың ескерте отырып, құйрықсыз қос мекенділер түрі Қазақстанда кең таралған. Зерттеу жасыл құрбақалардың (*Bufo viridis*) итшабақтарына МСЕФ үш концентрация субхроникалы және хроникалы әсері бойынша жүргізілді. Зерттеудің нәтижелері бақабастардың эксперименталдық топтар өсімінің және дамуының (мөлшері және салмағы) 1,6-1,8 есеге дейін кешігуі анықталды. Бұған қоса, жұлынның қисаюы, ісіну, құйрық, бас дамуының бұзылуы және пигментациядағы өзгерістер байқалды. Осылайша, МСЕФ әсері жасыл бақабастардың (*Bufo viridis*) өсуіне және дамуына кедергі келтіреді.

Түйін сөздер: мұнайдың суда еритін фракциясы, *Bufoviridis*, өсу, даму, морфологиялық деформациялар.

Список литературы

- 1 Beebee T.J.C., Griffiths R.A. The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? // Biol. Cons. - 2005. - Vol. 125. - P. 271-285.
- 2 Collins J.P., Storfer A. Global amphibian declines: sorting the hypotheses // Diversity and Distributions - 2003.- Vol.9. - P. 89-98.
- 3 Askarova M.A., Mussagaliyeva A.N. The ecological situation in contaminated areas of oil and gas exploration in Atyrau region //Procedia - Social and Behavioral Sciences. - 2014. - Vol.120. - P. 455-459. doi:10.1016/j.sbspro.2014.02.124.
- 4 Neuparth T., Capela R., Pereira S.P.P., Moreira S.M., Santos M.M., Reis-Henriques M.A. Toxicity Effects of Hazardous and Noxious Substances (HNS) to Marine Organisms: Acute and Chronic Toxicity of p-Xylene to the Amphipod Gammarus locusta // Journal of Toxicology and Environmental Health A. -2014. - Vol. 77. -P. 1210-1221. doi: 10.1080/15287394.2014.921867.
- 5 Akhmadi Invest. The share of the oil and gas industry in Kazakhstan's GDP decreased from 25% to 17%. [Electron. resource]. - 2016. - URL: <http://www.akhmadi-invest.com/2016/06/15/dolya-neftegazovoj-otrasli-v-vvp-kazaxstana-snizilas-s-25-do-17/> (accessed May 23, 2018)
- 6 Kolesnikov S.I., Spivakova N.A., Vezdeneva L.S., Kuznetsova Yu.S., Kazeev K.Sh. Modeling the Effect of chemical pollution on biological properties of hydromorphic solonchaks in the dry steppe zone of Southern Russia // Arid Ecosystems. - 2011. - Vol.1. - P. 83-86. doi:10.1134/S207909611102003X.
- 7 Unified Environmental Internet Resource. Information bulletins on the state of the environment of The Republic of Kazakhstan. - 2018. - URL: <http://ecogofond.kz/orhusskaja-konvencija/dostup-k-jekologicheskoy-informacii/jekologijaly-zha-daj/orsha-an-otrany-zhaj-k-ji-turaly-a-paratty-bjulletender> (accessed May 30, 2018)
- 8 Mahmoud K.E., Shalakhmetova T.M., Umbyev B.A. Short term effects of crude oil, vanadium and nickel intoxication on rats liver antioxidant defence system // KazNU Bulletin. Biology series. - 2012. - Vol. 2. - P. 32-37.
- 9 Shalakhmetova T.M., Mahmoud K.E., Umbyev B.A. Biochemical changes in male albino rats following single exposure to crude oil and ciprofloxacin // KazNU Bulletin. Ecology Series. - 2012. - Vol. 34. - P. 87-93.
- 10 Шаметов А.К., Кожаметова А.Н., Бигалиев А.Б., Бигалиева Р.К., Бекманов Б.О. Молекулярно-генетическое исследование грызунов из зоны хвостохранилища Кошкар-ата // Современные проблемы науки и образования - 2015. - Т. 2. - С. 559-566.
- 11 Шалахметова Т.М., Суворова М.А., Сутуева Л.Р., Ондасынова А.С., Жанкулова М.С., Мухатаева К.А.. Токсико-экологическое исследование фоновых видов животных, обитающих на территории Кызылординской области, прилегающей к месторождению // Кумколь Вестник КазНУ. Серия экологическая. - 2015. - №3 (45). - С. 284-291
- 12 Суворова М.А., Шалахметова Т.М., Сутуева Л.Р., Ондасынова А.С., Жанкулова М.С., Иманкулова Р. Ингаляционное воздействие паров сырой нефти месторождения Кумколь на крыс // Вестник КазНУ. Серия экологическая. - 2015. - №3 (45). - С. 276-283.
- 13 Wyman R.L. What's happening to the amphibians? // Conserv. Biol. - 1990. - Vol. 4. - P. 350-352.
- 14 Lips K.R. Decline of a tropical montane amphibian fauna // Conserv. Biol. - 1998. - Vol. 12. - P. 106-117.
- 15 Murphy J.E., Phillips C.A., Beasley V.R. Aspects of Amphibian Ecology /D. W.Sparling, G.Linder and C.A.Bishop// Ecotoxicology of amphibiansand reptiles / Society of Environmental Toxicology and Chemistry(SETAC). - Pensacola, FL, 2000. - P. 141-179.

-
- 16 Дуйсебаева Т.Н., Березовиков Н.Н., Брушко З.К., Кубыкин Р.А., Хромов В.А. Озерная лягушка (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) в Казахстане: Изменение ареала в XX столетии и современное распространение вида // Современная герпетология. - 2005. - Т. 3. - С. 29 - 59.
 - 17 Sparling D.W. Ecotoxicology of organic contaminants to amphibians / Sparling D. W., G. Linder, C. A. Bishop, and S. K. Krest // Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles. 2nd. ed. / SETAC Press. - Pensacola, FL, 2010. - P. 261-288.
 - 18 Melvin S.D., Trudeau V.L. Toxicity of naphthenic acids to wood frog tadpoles (*Lithobates sylvaticus*) // Journal of Toxicology and Environmental Health A. -2012. - Vol.75. - P. 170-173. doi:10.1080/15287394.2012.640092.
 - 19 Hatch A.C., Burton, Jr. G.A. Effects of photoinduced toxicity of fluoranthene on amphibian embryos and larvae // Environmental Toxicology and Chemistry. - 1998. - Vol. 9. - P. 1777-1785. doi: 10.1002/etc.5620170918.
 - 20 Anderson J.W., Neff J.M., Cox B.A., Tatem H.E., Hightower G.M. Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish // Marine Biology. - 1974. - Vol.27. - P. 75-88. doi:10.1007/BF00394763.
 - 21 Singer M.M., Aurand D., Bragin G.E., Clark J.R., Coelho G.M., Sowby M.L., Tjeerdema R.S. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing // Marine Pollution Bulletin. - 2000. -Vol. 40. -P. 1007-1016. doi:10.1016/S0025-326X(00)00045-X.
 - 22 Trudeau V.L., Somoza G.M., Natale G.S., Pauli B., Wignall J., Jackman P., Doe K., Schueler F.W. Hormonal induction of spawning in 4 species of frogs by coinjection with a gonadotropin-releasing hormone agonist and a dopamine antagonist // Reproductive Biology and Endocrinology. -2010. -Vol. 8. - P. 2-10. doi:10.1186/1477-7827-8-36.
 - 23 Перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение - М.: 1990, 49 с.
 - 24 Melvin S.D., Lanctot C.M., Craig P.M., Moon Th.W., Peru K.M., Headley J.V., Trudeau V.L. Effects of naphthenic acid exposure on development and liver metabolic processes in anuran tadpoles // Environmental Pollution. - 2013. - Vol. 177. - P. 22-27. doi:10.1016/j.envpol.2013.02.003.
 - 25 Wessel N., Rousseau S., Caisey X., Quiniou F., Akcha F. Investigating the relationship between embryotoxic and genotoxic effects of benzo[a]pyrene, 17 β -ethinylestradiol and endosulfan on *Crassostrea gigas* embryos // Aquatic Toxicology. - 2007. - Vol. 85. - P. 133-142. doi:10.1016/j.aquatox.2007.08.007.
 - 26 Hansen B.H., Salaberria I., Olsen A.J., Read K.E., Overjordet I.B., Hammer K.M., Altin D., Nordtug T. Reproduction dynamics in Copepods following exposure to chemically and mechanically dispersed crude oil // Environmental Science and Technology. - 2015. -Vol. 49. - P. 3822-3829. doi:10.1021/es504903k.
 - 27 Marentette J.R., Frank R.A., Bartlett A.J., Gillis P.L., Hewitt L.M., Peru K.M., Headley J.V., Brunswick P., Shang D., Parrott J.L. Toxicity of naphthenic acid fraction components extracted from fresh and aged oil sands process-affected waters, and commercial naphthenic acid mixtures, to fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos // Aquatic Toxicology. - 2015. - Vol. 164. - P. 108-117. doi:10.1016/j.aquatox.2015.04.024.
 - 28 Pampanin D.M., Le Goff J., Skogland K., Marcucci C.K., Jysd K.B., Lorentzen M., Jrgensen K.B., Sydnos M.O. Biological effects of PAHs and their first metabolic products in in vivo exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) // Journal of Toxicology and Environmental Health A. - 2016. - Vol. 79, - P. 633-646. doi: 10.1080/15287394.2016.1171993.
 - 29 Mahaney P.A. Effects of freshwater petroleum contamination on amphibian hatching and metamorphosis // Environmental Toxicology and Chemistry. - 1994. - Vol. 13. - P. 259-265. doi:10.1002/etc.5620130210.
 - 30 Park C.J., Song S.H., Kim D.H., Gye M.C. Developmental and acute toxicity of cetylpyridinium chloride in *Bombina orientalis* (Amphibia: Anura) // Aquatic Toxicology. - 2016.- Vol. 177. - P. 446-53. doi:10.1016/j.aquatox.2016.06.022.
 - 31 Ghodageri M.G., Pancharatna K. Morphological and behavioral alterations induced by endocrine disruptors in amphibian tadpoles // Toxicological Environmental Chemistry. - 2011. - Vol.93. - P. 2012-2021. doi:10.1080/02772248.2011.621595.
 - 32 Peltzer P.M., Lajmanovich R. C., Attademo A. M., Junges C. M., Cabagna-Zenklusen M. C., Repetti M. R., Sigrist M. E., Beldomnico H. Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2013. - Vol. 98. - P. 142-151. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.09.010.
 - 33 Brunelli E., Bernabè I., Berg C., Lundstedt-Enkel K., Bonacci A., Tripepi S. Environmentally relevant concentrations of endosulfan impair development, metamorphosis and behaviour in *Bufo bufo* tadpoles // Aquatic Toxicology. - 2009. - Vol. 91. - P. 135-142. doi:10.1016/j.aquatox.2008.09.006.
 - 34 McIntosh S., King T., Wu D., Hodson P.V. Toxicity of dispersed weathered crude oil to early life stages of Atlantic herring (*Clupea harengus*) // Environmental Toxicology and Chemistry. - 2010. - Vol. 29. - P. 1160-1167. doi: 10.1002/etc.134.
 - 35 Erickson R.J., Nichols J.W., Cook P.M., Ankley G.T. Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems / R.T. Di Giulio and D.E. Hinton // The Toxicology of Fishes / CRC Press. - Boca Raton, 2008. - P. 9-54
 - 36 Richards S.M., Kendall R.J. Physical effects of chlorpyrifos on two stages of *Xenopus laevis* // Journal of Toxicology and Environmental Health A. - 2003. - Vol. 66. - P. 75-91. doi: 10.1080/15287390390155769.

Сведения об авторах:

Sutuyeva L.R. – Junior researcher of the research Institute of problems of biology and biotechnology, teacher, al-Farabi Kazakh national university, 71 al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan

Shalakhmetova T.M. – chief researcher of the research Institute of biology and biotechnology, Professor, al-Farabi Kazakh national university, 71 al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan

Сутуева Л.Р. – Биология және биотехнология мәселелері ҒЗИ кіші ғылыми қызметкері, оқытушы, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, әл-Фараби даңғылы 71, Алматы қ., Қазақстан

Шалахметова Т.М. – биология және биотехнология мәселелері ҒЗИ бас ғылыми қызметкері, профессор, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, әл-Фараби даңғылы 71, Алматы қ., Қазақстан

Received 26.09.2019

«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, 409 кабинет) және eurjourbio@enu.kz электрондық поштасына PDF, Tex форматтарындағы нұсқаларын жіберу қажет. Мақаланың мәтінінің қағаз нұсқасы мен электронды нұсқасымен 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

FTAMPK <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 әдебиеттерге сілтемелер тікжақшаға алынады. Мәтіндегі әдебиеттер тізіміне сілтемелердің нөмірленуі мәтінде қолданылуына қатысты жүргізіледі: мәтінде кездескен әдебиетке 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 (әдебиеттер тізімінің әзірлеу үлгілерін төмендегі мақаланы рәсімдеу үлгісінен қараңыз).

Мақала соңындағы әдебиеттер 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: KСJBKZKX

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: HSBKKZKX

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 349) 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 нецензурируемые 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, Astana, 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.

Key words: 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 rational 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.

Таблица 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 Кусанова 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 резистенттілік жауаптың tomato bushy stunt virus (tbsv) вирусының p41 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 Р41-ді тану арқылы белсендірілетінін көрсетеді.

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

Г.С. Мукиязова¹, А.Ж. Акбасова¹, М.Х. Позо², Р.Т. Омаров¹

¹ Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева

² Испанский национальный исследовательский центр, Гранада, Испания

Капсидный белок р41 вируса tomato bushy stunt virus (tbsv) активизирует резистентность у растений вида solanum lycopersicum

Аннотация. Кодированный вирусом Tomato bushy stunt virus (TBSV), белок Р19 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 Р19 является элиситором гиперчувствительного ответа у Nicotiana tabacum. Капсидный белок вируса Р41 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 Р19 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 Р41 вируса TBSV.

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

References

- 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:

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

Акбасова 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 of department, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Nur-Sultan, Kazakhstan.

Received 26.09.2019

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

Шығарушы редактор, дизайн: А. Нұрболат

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің
Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы.
- 2019. 3(128) - Нұр-Сұлтан: ЕҰҰ. 119-б.
Шартты б.т. - 12,86. Таралымы - 20 дана.

Мазмұнына типография жауап бермейді

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті
Тел.: (8-717-2) 70-95-00(ішкі 31-428)

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің баспасында басылды