

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ

BULLETIN

of L.N. Gumilyov Eurasian
National University

ВЕСТНИК

Евразийского национального
университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия **БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**

№4(125)/2018

Founded in 1995

1995 жылдан бастап шығады

Published 4 times a year

Издается с 1995 года

Жылына 4 рет шығады

Выходит 4 раза в год

Астана, 2018
Astana, 2018

Бас редакторы
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, профессор
Р.І. Берсімбай (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)
Алиқұлов 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, Астана қ., Сәтпаев к-сі, 2, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 349 б.
Тел: +7(7172) 709-500 (ішкі 31-428). E-mail: eurlourbio@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 тіркелген. 27.03.2018ж.
№16998-Ж тіркеу күәлігі. Тиражы: 25 дана
Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Астана 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, Pof.
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)
Sarbasov D.D.	PhD, Prof. (USA)
Vycotskaya L.V.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Russia)
Zakiyan S.M.	Doctor of Biological Sciences, Prof. (Russia)

2, Satpayev str., of. 349, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, 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-ЖК from 27.03.2018. Circulation: 25 copies

Address of printing house: 12/1 Kazhimukan str., Astana, 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)
Аскарова 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. Астана, ул. Сатпаева, 2, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, каб. 349
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: 25 экземпляров

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

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

4(125)/2018

МАЗМҰНЫ

<i>Ақбасова А.</i> TBSV вирус инфекциясының қызанақ сұрыпына өзіндік әсері	8
<i>Абиев С.А., Асылханова Р.З., Зияханова Р.Н., Баубекова А.К.</i> Астана қаласының Жасыл белдеміндегі өсімдік аурулары	19
<i>Богуспаев К.К., Фалеев Д.Г., Мырзағалиев Ж.Ж., Наекова С.К., Аубакирова К.М., Мырзабаева М.Т., Инсепов З., Аликулов З., Ургалиев Ж.Ш., Арыстанова Ш.Е.</i> Диатомиттің әртүрлі концентрацияларының арпаның (<i>Hordeum vulgare</i> L.) микротрофтылығының деңгейіне әсері	26
<i>Наекова С.К., Сатжанов М., Исаева А.У., Аубакирова К.М., Мырзабаева М.Т., Аликулов З.А., Ургалиев Ж.Ш., Арыстанова Ш.Е.</i> Мұғалжар диатомитінің әртүрлі үлгілеріне салыстырмалы сипаттама	33
<i>Дуамбеков М.С., Молдагулова Н.Б., Аюпова А.Ж., Хасенова Ә.Ж., Сембаева Д.Ж.</i> Органикалық қалдықтарды ферменттеуге қабілеті бар белсенді микроорганизмдер штамдарының фенотиптік қасиеттерін зерттеу	41
<i>Жангазин С.Б., Уалиева Р.М.</i> Ақуыздар экспрессиясының өсімдікті жүйесі	49

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

4(125)/2018

CONTENTS

<i>Akbassova A.</i> Cultivar specific influence of TBSV infection on tomatoes	8
<i>Abiyev S.A., Asilhanova R.Z., Ziyahanova R.N., Baubekova A.K.</i> Plant diseases in Green Zone of Astana	19
<i>Boguspaev K.K., Faleev D.G., Myrzagaliev Zh.Zh., Nayekova S.K., Aubakirova K.M., Myrzabaeva M.T., Insepov Z.A. Alikulov Z., Urgaliyev Zh. Sh., Arystanova Sh. E.</i> Effect of different concentrations of diatomite on microtropic level of barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	26
<i>Naekova S.K., Satkanov M., Isaeva A.U., Aubakirova K.M., Myrzabaeva M.T., Alikulov Z.A., Urgaliyev Zh.Sh., Arystanova Sh.E.</i> Comparative characteristics of different samples of Mugalzhar diatomite	33
<i>Duambekov M.C., Moldagulova N.B., Ayupova A.Zh., Khassenova E.Zh., Sembaeva D.Zh.</i> The study of the phenotypic properties of active strains of microorganisms capable of fermenting organic waste	41
<i>Zhangazin S.B., Ualiyeva R.M.</i> Plant protein expression system	49

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

4(125)/2018

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Акбасова А.</i> Сорг - специфическое влияние инфекции TBSV вируса на томаты	8
<i>Абиев С.А., Асилханова Р.З., Зияханова Р.Н., Баубекова А.К.</i> Болезни растений в Зеленом поясе города Астаны	19
<i>Богуспаев К.К., Фалеев Д.Г., Мырзагалиев Ж.Ж., Наекова С.К., Аубакирова К.М., Мырзабаева М.Т., Инсепов З., Аликулов З., Ургалиев Ж.Ш., Арыстанова Ш.Е.</i> Влияние различных концентраций диатомита на степень микотрофности ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.).	26
<i>Наекова С.К., Сатканов М., Исеева А.У., Аубакирова К.М., Мырзабаева М.Т., Аликулов З.А., Ургалиев Ж.Ш., Арыстанова Ш.Е.</i> Сравнительная характеристика различных образцов Мугалжарского диатомита	33
<i>Дуамбеков М.С., Молдагулова Н.Б., Аюпова А.Ж., Хасенова Э.Ж., Сембаева Д.Ж.</i> Изучение фенотипических свойств активных штаммов микроорганизмов, способных ферментировать органические отходы	41
<i>Жангазин С.Б., Уалиева Р.М.</i> Растительная система экспрессии белков	49

БИОЛОГИЯ



IRSTI 34.25.23

A. Akbassova

*L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan
(E-mail: a.j.alua@gmail.com)*

Cultivar specific influence of TBSV infection on tomatoes

Abstract: In this study, the effect of *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) infection on *Solanum lycopersicum* three cultivars and the model plant *Nicotiana benthamiana* were investigated. According to our studies, the degree of infection by TBSV varies depending on the cultivar of tomatoes. Cultivars *Better boy* and *Pera* are resistant, while *Money maker* cultivar was tolerant to TBSV infection. These results show that the plants might contain different resistance genes that selectively respond to the TBSV virus and indicate the presence of certain defence mechanisms within the species. Moreover, the analysis carried out using the Chlorophyll Fluorescence Imaging System (ChFI) and fluorometer showed that despite the absence of visual infection symptoms in *Money maker* tomato cultivars, there is an increase in the level of secondary metabolites and a slight reduction of the photosynthesis activity.

Keywords: Chlorophyll fluorescence imaging, photosynthesis, *Solanum lycopersicum* cv. *Money Maker*, *Tombusvirus*, *Tomato Bushy Stunt Virus*.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-8-18>

Introduction. Viruses trigger various plant diseases, causing a significant damage to crop yields and a variety of plants. Essentially, the process of interaction of a pathogen with a host plant depends on how quickly the plant can mobilize protective mechanisms that implies biochemical and structural responses to prevent pathogen development.

Often virus-infected plants survive by overcoming various visible symptoms of infection on leaves (spotting, mosaic, chlorosis, necrosis, etc.). However, an infection inevitably lowers the yield level [1].

Plant viruses, as mandatory biotrophic pathogens, attack a wide range of plant species using the host cell machinery for protein synthesis, genome replication and intercellular systems to support their systemic spreading. Viral infection generally causes symptoms leading to morphological and physiological changes in infected plant hosts, which always takes on low productivity, such as reducing the host's biomass and crop loss.

The most common viral symptom is a leaf chlorosis, which reflects the altered pigmentation and structural changes in chloroplasts. Viral effect on the structure and function of chloroplasts usually leads to the reduced photosynthetic activity. Since the beginning of the twentieth century it became known that a viral infection inhibits the photosynthesis of the host, which is usually associated with viral symptoms [2] Alterations in photosynthesis are a common strategy of viral pathogenesis to facilitate an infection and create an optimal niche [3]. Disruption of the components and functions of chloroplast can cause the formation of symptoms of chlorosis associated with a viral infection. A number of typical changes, followed by chlorotic symptoms, imply the emergence of chloroplast interactions with the virus. These changes include a chlorophyll fluorescence fluctuation and a reduced chlorophyll pigmentation [4], an inhibited photosystem efficiency, an unbalanced accumulation of photoassimilates [5], changes in chloroplast structures and functions [6], a suppressed expression of

nuclear-coded chloroplasts and photosynthesis-related genes (CPRG) and a direct binding of viral components to chloroplast factors [7].

Chloroplasts have always been one of the main targets of plant viruses. For example, a severe chlorosis on systemic leaves infected with *Cucumber Mosaic virus* (CMV) in *Nicotiana tabacum cv. Xanthi nc* is associated with a decrease in the size of chloroplasts containing a few grana. Moreover, another example shows that a leaf mosaic caused by a viral infection may be related to the location of clustered mesophilic cells with differently damaged chloroplasts [8]. The example also shows that the symptom caused by *Potato Virus Y* (PVY) infection is often associated with a decrease in the number and size of the chloroplast in host plants, as well as with an inhibited photosynthesis [9].

Tomato bushy stunt virus (TBSV) is a representative of the genus *Tombusvirus* in the *Tombusviridae* family. It has a fairly limited range of hosts, mainly infecting several dicotyledonous species in individual families and vegetables. However the experimental range of hosts is wide and more than 120 plant species in more than 20 different families are reported to be susceptible, although in most plants the infection often remains localized around the virus inoculated site [10].

TBSV particles encapsulate a single copy of the single-stranded positive sense RNA (ssRNA) consisting of approximately 4,800 nucleotides (nt). Genomic RNA (gRNA) functions as mRNA for translation of two 5'-proximal genes encoding a 33 kDa protein (P33) and a readable 92 kDa product (P92); both are necessary for a replication [11]. The 41 kDa TBSV capsule protein gene (CP) is translated from subgenomic RNA1 (sgRNA1) and is required for a specific host for an effective systemic spreading. Two nested p22 and p19 genes located near the 3'-end of the gRNA are translated from subgenomic RNA2 (sgRNA2). These genes express proteins of 22 kDa (P22) and 19 kDa (P19), respectively [12].

Symptoms induced by TBSV are largely dependent on the host genotype; they can range from necrotic and chlorotic lesions, to systemic mild or severe mosaic, or they can result in a fatal necrosis. Original isolates of TBSV from tomato plants caused a spotting, wrinkling and twisting of systemic leaves showing a tissue necrosis in a systemic infection. The yield of tomatoes can be significantly reduced due to a viral infection. Plants can be stunted, and the proliferation of lateral shoots leads to a dense appearance of infected tomato plants, giving a bushy appearance corresponding to the name of the pathogen.

TBSV systemically affects the plants *Nicotiana benthamiana* and *N. clevelandii* and leads to the systemic necrosis, whereas infection of *N. tabacum*, *N. glutinosa* and *N. edwardsonii* results in the formation of local necrotic lesions [13].

Over the past 40 years, it has been reported that *Tombusviruses* cause significant harm to tomatoes in greenhouses and fields in Italy, Argentina, Mexico, Portugal, Tunisia, US and Spain. TBSV also caused epidemics of diseases in aubergines (*Solanum melongena* L.) in Tunisia and Spain. TBSV was isolated along with other viruses from an infected salad in Czechoslovakia and Turkey.

Fattouh F.A., 2010 reports a loss of chlorophyll content in *TBSV Egh*-infected *Lycopersicon esculentum* and *Cucurbita pepo* and the observation of significant differences in glucose, sucrose and polysaccharides. Symptoms of TBSV infected cabbages are manifested in the form of delayed plant growth and extensive chlorosis, spotting and necrosis of old leaves. Plants infected at an early age died [14].

One of the hosts of the TBSV virus is a tomato plant (*Solanum lycopersicum* L). For the first time this virus was discovered by Smith, 1935 in tomatoes [15], and this is where its name originates, although further studies on tomatoes were less frequent. Currently there is a wide range of tomato cultivars. Therefore the aim of this study is to determine tomato cultivars that are more susceptible to TBSV infection. In the furtherance of this purpose the cultivars *Money maker*, *Pera*, *Better Boy* were selected, since according to virologists, these particular cultivars were one of the most susceptible to *TYLCV* (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*) infection [16]. The choice of such cultivars is also based on the fact that the influence of TBSV on them has not yet been studied.

Materials and methods

Plant and virus materials: Seeds of plants *Nicotiana benthamiana* and *Solanum lycopersicum* were grown in the soil containing biohumus and basic nutrients such as nitrogen (NH₄ + NO₃) 150 mg/l, phosphorus (P₂O₅) 270 mg/l, potassium (K₂O) 300 mg/l, with a pH of 6.0-6.5 in the

greenhouse. The greenhouse is equipped with white-fluorescent lamps of 230 V, a timer with 16-hour operation, and a temperature regime of 25/20 ° C (day and night) with a humidity of 80%. Plants were watered 3 times a week with 50 ml of water.

Plants of 25-35 days of the same size were selected to provide equal experimental conditions. 20 μ l of an inoculation buffer (10 mM sodium phosphate buffer, pH 6.9) containing virions and carborandum (d= 0,037mm) were applied on the surface of middle leaves of each plant.

Plants inoculation by TBSV RNA transcripts: For plants inoculation in vitro generated transcripts of full length TBSV cDNAs were used [17]. For this, plasmids containing the inserts were linearized at the 3'-end of the viral cDNA sequence by restriction SmaI enzyme digest. Transcripts were synthesized using T7 RNA polymerase, and resulting transcripts were used for inoculation of plants as previously described [18]. Control plants were mock-inoculated by using phosphate buffer without viral RNA. Healthy and infected plants were grown separately in the same conditions.

Western blot analysis: Protein samples extracted from mock-inoculated and TBSV infected plants were separated by 12% SDS - polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and transferred to nitrocellulose membrane (Osmonics, Westborough, MA). After transfer the membranes were stained with Ponceau S (Sigma, St. Louis, MO) for verification of protein transfer efficiency. The resulting membrane was incubated with diluted primary antibodies (1:5000) raised against P19 TBSV protein. Alkaline phosphatase conjugated to goat anti-rabbit antiserum (Sigma) was used as a secondary antibody at a dilution of 1:3000, and the immune complexes were visualized by hydrolysis of tetrazolium-5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate as the substrate.

Measurements of photosynthetic activity and chlorophyll fluorescence: Measurement of photosynthetic activity was carried out at various time points in virus-infected and mock-inoculated plants. Local measurement of photosynthetic activity on upper, non-inoculated leaves was made with a portable fluorometer (FluorPen FP 100, Czech Republic) every 3 days after inoculation during 24 days.

Measurements of a chlorophyll fluorescence induction on infected plants were performed using a commercial kinetic imaging fluorometer (FluorCam, Foton System Instruments, Czech Republic) as described by Perez-Bueno M. et.al. (2006). All measurements were conducted on the sixth or seventh leaf stage of developed plants.

Statistical analysis:

Statistical analysis of the average means of the photosynthesis intensity was carried out using the software GraphPad Prism 6.

Results.

Determination of tomato cultivars susceptible to TBSV infection

Five weeks old tomato leaves were mechanically inoculated with TBSV transcripts as described previously and grown in the greenhouse at 25 ° C. Symptoms visually did not appear on all cultivars at 35 dpi (days post inoculation). Neither the inhibition of growth nor the manifestation of symptoms in the form of twists and yellowing of the leaves were observed for all cultivars *Better boy* (Fig.1), *Pera* (Fig. 2) and *Money maker* (Fig. 3) [19]. TBSV inoculated *N. benthamiana* plants show pronounced symptoms such as leaf curling, yellowing, stunting and the acquisition of a bushy form of stems. For this reason *N. benthamiana* was used as a positive control model plant on which the fundamental mechanisms of RNA interference suppression by P19 protein of TBSV have been previously described [20,21] (Fig. 4).

Five weeks old *N. Benthamiana* plants were rub-inoculated. On the left is the mock-inoculated (by phosphate buffer of virus-free material) plant. On the right is the TBSV-inoculated plant. On 7 dpi on TBSV - infected plants appear twisting and spotting of apical leaves, growth retardation compared to control plants. By 21-28 dpi, TBSV-infected plants undergo systemic collapse.

Viral protein accumulation

Determination of viral infection was carried out for the presence of viral proteins in infected plants. Viral protein accumulation was analyzed by Western blot assay of P19 protein. The suppressor protein P19 is an indicator of a viral infection. Western blot analysis was performed using

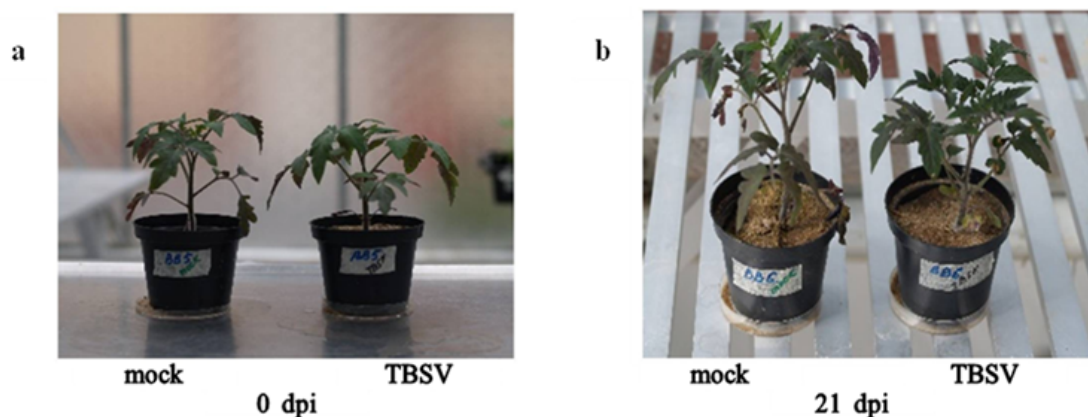


FIGURE 1 – Symptom development of TBSV infection on tomatoes cv. *Better boy*: (a) Plants before inoculation. (b) Plants after 21 days post inoculation (dpi). In both figures on the left the control mock-inoculated plants, on the right the TBSV – infected plants. No visual symptoms of TBSV infection were observed during 21 dpi.

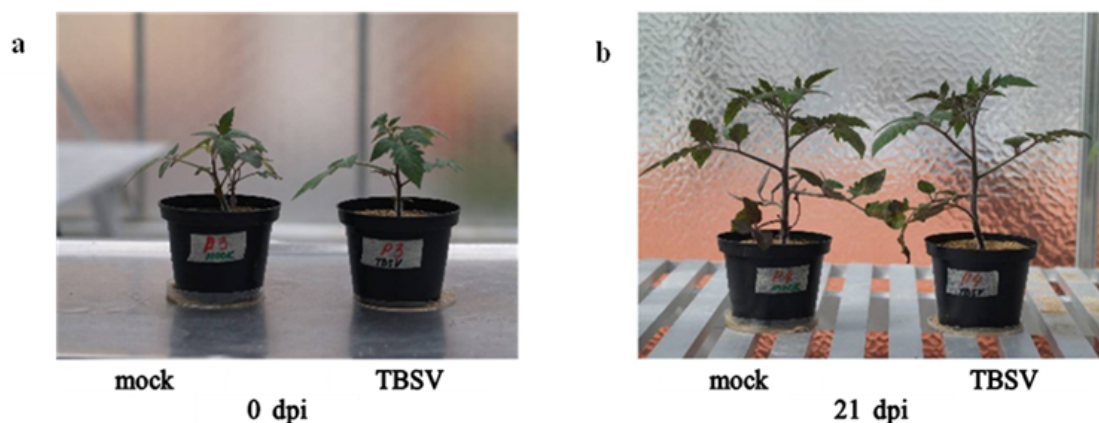


FIGURE 2 – Symptom development of TBSV infection on tomatoes cv. *Pera*: (a) Plants before inoculation. (b) Plants after 21 days post inoculation (dpi). In both figures on the left the control mock-inoculated plants, on the right the TBSV – infected plants. No visual symptoms of TBSV infection were observed during 21 dpi.

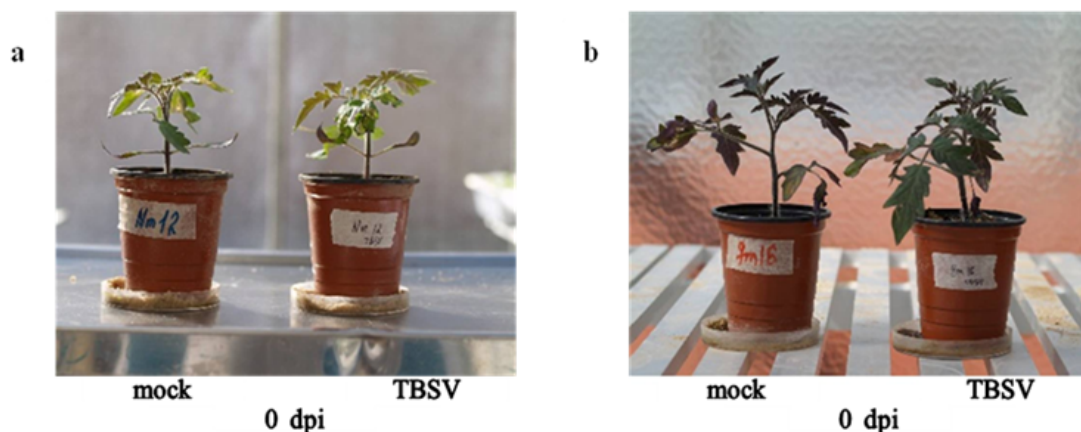


FIGURE 3 – Symptom development of TBSV infection on tomatoes cv. *Money Maker*: (a) Plants before inoculation. (b) Plants after 21 days post inoculation (dpi). In both figures on the left the control mock-inoculated plants, on the right the TBSV – infected plants. No visual symptoms of TBSV infection were observed during 21 dpi.

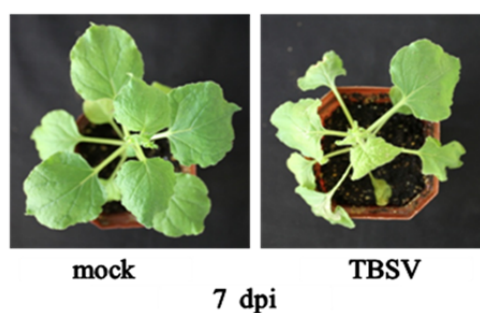


FIGURE 4 – Symptom development of TBSV infection on *N. Benthamiana* at 7 dpi.

polyclonal antibodies against P19 (Fig. 5). Apical, non-inoculated leaves of tomatoes were used for an experiment.

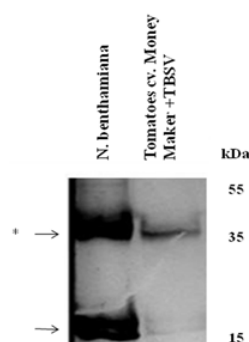


FIGURE 5 – Western blot analysis of TBSV infected plants.

Western blot analysis revealed presence of P19 protein in samples extracted from leaves of *N. benthamiana* and in tomato plants cv. *Money Maker*. However the amount of P19 protein was lower in *Money Maker* plants than in *N. benthamiana*. The expression of the viral protein was not detected in tomatoes cv. *Pera* and *Better Boy* (results not shown). This indicates that despite the absence of visual symptoms the inoculation of cv. *Money Maker* resulted in successful accumulation of the virus. Rabbit P19 antiserum was used for Western blot protein detection, and immune complexes were visualized using alkaline phosphatase hydrolysis of tetrazolium-5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate as the substrate. Molecular mass markers in kDa are indicated on the right side of the panel. *- dimer of P19 protein observed after SDS-PAGE.

Effect of TBSV infection on the photosynthesis of *N. benthamiana* and tomato cv. *Money maker*

To determine the effect of TBSV infection on the photosynthesis parameters of *N. benthamiana* and tomato cv. *Money maker*, the leaves of 30 days old plants were mechanically inoculated. During the entire experimental period of 30 dpi, control and TBSV infected plants were analyzed at 3, 7, 14 and 21 dpi. The level of photosynthesis was measured using a portable digital fluorometer FP100. The fluorometer allows a rapid and accurate measurement of chlorophyll fluorescence parameters. Measurement of the activity of the photosynthesis and photographic analysis were performed every 3 days after the inoculation on the middle and apical leaves, in order to detect the exact period when the effect of the infection would be the most pronounced even if there are no visible symptoms. A combined graph was being plotted for the mean values of the fluorescence intensity of chlorophylls after every measurement of the photosynthesis activity of 40 plants (Fig 6, 7).

The diagram shows the results of the average means of the photosynthesis level on the apical (non-inoculated) leaves of *N. benthamiana* and tomatoes cv. *Money maker* at different days post inoculation (dpi): where "ns" is a non-significant difference between the numeric data, Student's t-test. According to the data obtained by the digital fluorometer, there are no significant differences between control and infected plants in the level of photosynthesis during 14 dpi for *N. benthamiana*

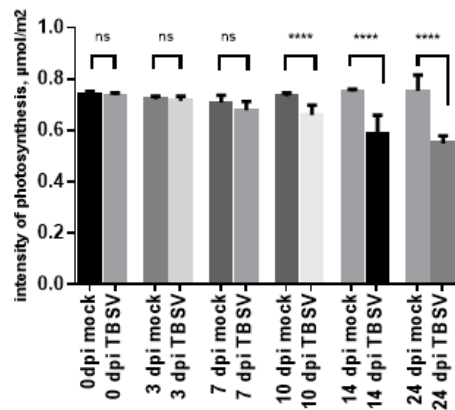


FIGURE 6 – The average level of plant photosynthesis on the apical leaves of *N. benthamiana* for 24 days of the experimental period.

and after 14 dpi the level of photosynthesis sharply decreases in the infected plants, whereas in the control plants there are no significant changes during the entire experimental period (24 dpi).

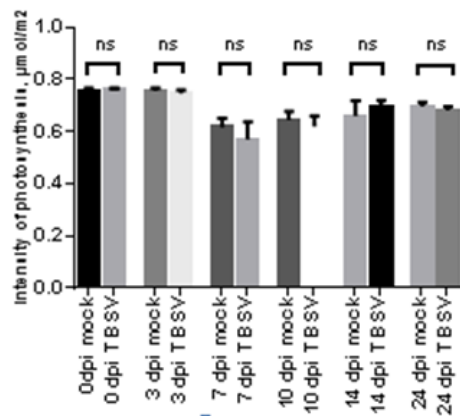


FIGURE 7 – The average level of plant photosynthesis on apical leaves of *Money maker* for 24 days of the experimental period.

The diagram shows the results of the average means of the photosynthesis level on the apical (non-inoculated) leaves of *N. benthamiana* and tomatoes cv. *Money maker* at different days post inoculation (dpi): where "ns" is a non-significant difference between the numeric data, Student's t-test. According to the data obtained by the digital fluorometer, for the tomato cv. *Money maker*, the difference between the levels of photosynthesis in both infected and control plants was non-significant during all experimental period.

In addition to this analysis, Chl-FI was also performed. The experiment was carried out in two biologic repeats on 40 plants in each of them (Fig.8, 9). The kinetics of the pathogenesis of TBSV in *N. benthamiana* and the *Money maker* was monitored by registering images using various Chl-FI parameters and comparing control and infected plants. The photosynthetic parameters were measured every 3 days for 21 dpi. In the first 7 days, there were no changes that differed from the control plants. The first changes were registered during the period between 7-14 dpi for *N. benthamiana* plants (Fig.8), and for *Money maker* during the period from 14-21 dpi (Fig.9).

After conducting Chl-FI studies, it was found that the leaves of the mock-inoculated plants fluorescence in intense blue color, indicating a sufficient amount of chlorophylls in the leaves. And also slightly red color indicates the presence of secondary metabolites, which is the norm for healthy plants, but under biotic stress conditions the level of secondary metabolites rises because of the

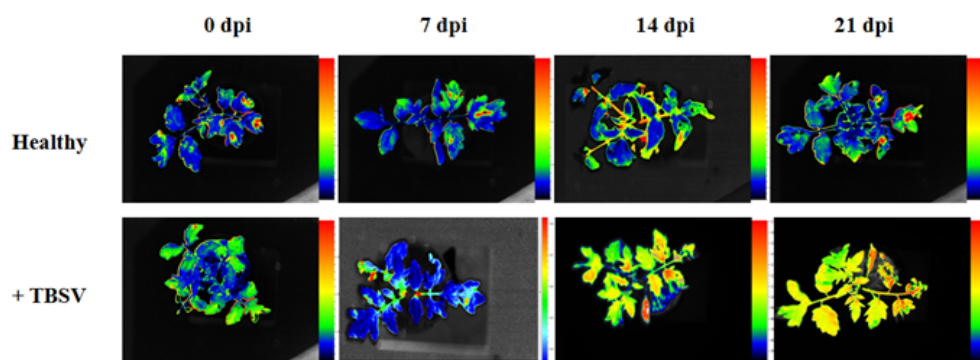


FIGURE 8 – Chl-FI imaging of *N. benthamiana*. Blue color indicates a sufficient amount of chlorophylls in the leaves, red color indicates the presence of secondary metabolites. Fluorescence Imaging system (Chl-FI), allows to observe the red fluorescence emitted by chlorophyll *a* (Chl *a*), poses the possibility of studying the change in the efficiency of photosynthesis in leaves in response to the biotic and abiotic factors. A Chl-FI study showed the presence of an intense blue fluorescence and a light red colour in the leaves of the control plants. In the leaves of TBSV-infected plants, an intense red light was detected, which increased starting from 7 dpi for *N. benthamiana*

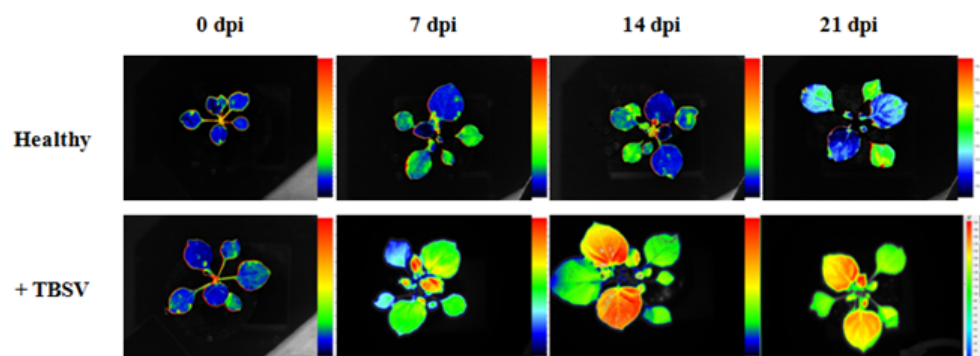


FIGURE 9 – Chl-FI imaging of tomatoes cv. *Money maker*. Blue color indicates a sufficient amount of chlorophylls in the leaves, red color indicates the presence of secondary metabolites. Fluorescence Imaging system (Chl-FI), allows to observe the red fluorescence emitted by chlorophyll *a* (Chl *a*), poses the possibility of studying the change in the efficiency of photosynthesis in leaves in response to the biotic and abiotic factors. A Chl-FI study showed the presence of an intense blue fluorescence and a light red colour in the leaves of the control plants. In the leaves of TBSV-infected plants, an intense red light was detected, which increased starting from 14 dpi for tomatoes cv. *Money maker*

malfunction of the photosystems. Therefore, an intense red fluorescence was detected in the infected samples [22]. A Chl-FI study showed the presence of an intense blue fluorescence and a light red colour in the leaves of the control plants. In the leaves of TBSV-infected plants, an intense red light was detected, which increased starting from 7 dpi for *N. benthamiana* and from 14 dpi for tomatoes cv. *Money maker*.

Discussion. Viral infection is one of the biotic stresses that reduces yield of crops. Plants may differently response to viral infection. Four plant categories are distinguished based on the degree of resistance for viral infection: sensitive, tolerant, supersensitive and extremely resistant [23].

When we inoculated 3 different cultivars of tomato with TBSV virus, we found that not all the cultivars show similar symptoms to the TBSV infection (Fig1,2,3).

Viruses production of the diagnosis of a viral infection by western blotting assay of the viral protein P19 was carried out in order to determine a category of above-mentioned cultivars of tomatoes.

The results of inoculation of three different tomato cultivars demonstrated that the cv. *Money maker* is tolerant to TBSV infection, as it showed an accumulation of TBSV P19 with no visible symptoms (Fig. 3, 5). While in the cultivars *Pera* and *Better boy* neither an accumulation of P19 protein (Fig.5) nor symptoms were detected, which indicates their resistance to TBSV infection (Fig.1, 2). This implies the presence of certain protection mechanisms within species [24].

According to the data obtained by the digital fluorometer, for the tomato cv. *Money maker*, the difference between the level of photosynthesis in both infected and control plants was non-significant (Fig.7), but for *N.benthamiana* (Fig.6), and after 14 dpi the level of photosynthesis sharply decreases in the infected plants, whereas in the control plants there are no significant changes during the entire experimental period (24 dpi). Thus it can be concluded that the reduction of the level of photosynthesis in TBSV-infected *N. benthamiana* after 14 dpi is probably due to an impaired function of the chloroplasts [25].

Data obtained by Balachandran S. et al. (1997) showed that the early activation of the protective mechanisms of *N. tabacum* against the infection of the tobacco mosaic virus (TMV) leads to local damages of the photosynthetic apparatus, which in turn results in the impairment of photosynthetic parameters [26]. Moreover, the viral infection inhibits the expression of genes associated with the function of chloroplasts and photosynthesis [27].

Due to the fact that in the previous experiment on *Money maker* there were no visible symptoms and changes in the level of photosynthesis in TBSV-infected tomatoes (Fig. 7), while the P19 virus protein was expressing (Fig. 5), it was decided to study other parameters of the photosynthesis. Therefore, Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) was used to study the effect of *TBSV* on *N. benthamiana* and cv. *Money maker*. This equipment is especially used in the case of biotic stress, when visible symptoms, the heterogeneity of metabolism and the activity of photosynthesis cannot be detected [28] as our plants showed changes in 14 days. The reason might be change in the structure and function of the chloroplast that leads to chlorosis and leaf necrosis by damaging Calvin cycle and carbohydrate metabolism as a result of viral infection [29]. The development of the technology for the processing of various images, such as the Chlorophyll (indeed similarly, Fig.8 and Fig. 9) [30].

Conclusion. The degree of TBSV infection varies depending on the cultivar of the tomatoes: the tomatoes *Better boy* and *Pera* are resistant, and the *Money maker* is tolerant to the TBSV infection, because even with the accumulation of viral proteins plants do not get sick and therefore do not show visible symptoms of the virus infection. These results show that the plants might contain a number of resistance genes that selectively response to the same virus. The analysis carried out using the Chlorophyll Fluorescence Imaging System (Ch-FI) and fluorometer demonstrated that despite the absence of symptoms in TBSV-infected *Money maker* tomatoes, there are the increase in the level of secondary metabolites and a slight reduction of the photosynthesis activity.

Foundation. This work was supported by Kazakhstan Grant National Program 2018-2020yy. Foundation was provided by Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (AP05135633 “The influence of virus protein determinants on acquired resistance of plants and generation plant seed material with pre-programmed resistance to the viral infection”, AP05135013 “The involvement of ROS producing Mo-enzymes in root development and stress tolerance of plants” and BR05236574 “The development of advanced technologies to produce crops resistant to stress factors in utilizing adaptive mechanisms of plants”).

Acknowledgment.: The work was carried out in the department of Soil Microbiology and Symbiotic Systems, Spanish National Research Council (CSIC), Granada, Spain. Authors are very grateful to Dr. Maria J. Pozo for providing different cultivars of tomatoes and consultation (Spanish National Research Council (CSIC) Granada, Spain). We thank Dr. Matilde Baron for the commercial kinetic imaging fluorometer provided (Spanish National Research Council (CSIC) Granada, Spain)

References

- 1 Brunt A. A., Crabtree M. J., Dallwitz A., Gibbs J. , Watson L. Viruses of Plants, Description and lists from the VIDE Database // CAB International. - 1996. - P.1284- 1323.
- 2 Owen P. C. The effect of infection with tobacco etch virus on the rates of respiration and photosynthesis of tobacco leaves // Ann. Appl. Biol. - 1957. - Vol. 45. - P. 327-331.
- 3 Gunasinghe U., Berger P. Association of potato virus Y gene products with chloroplasts in tobacco // Mol. Plant. Microbe Interact. -1991. -Vol.4. -P.452-457.
- 4 Balachandran S., Osmond C. B., Daley P. F. Diagnosis of the earliest strain-specific interactions between tobacco mosaic virus and chloroplasts of tobacco leaves in vivo by means of chlorophyll fluorescence imaging // Plant Physiol. - 1994. - Vol.104. - P. 1059-1065.

- 5 Almon E., Horowitz M., Wang H. L., Lucas W. J., Zamski E., Wolf S. Phloem-specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein alters carbon metabolism and partitioning in transgenic potato plants // *Plant Physiol.* - 1997. –Vol.115. –P. 1599–1607.
- 6 Otulak K., Chouda M., Bujarski J., Garbaczewska G. The evidence of tobacco rattle virus impact on host plant organelles ultrastructure // *Micron.* -2015. –Vol. 70. – P.7–20.
- 7 Zhao J., Liu Q., Zhang H., Jia Q., Hong Y., Liu Y. The RubisCO small subunit is involved in Tobamovirus movement and Tm-22-mediated extreme resistance // *Plant Physiol.* – 2013. - Vol.161., -P. 374–383.
- 8 Almósi A., Harsónyi A., Góborjónyi R. Photosynthetic alterations of virus infected plants // *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* – 2003. –Vol. 36. – P. 15–29.
- 9 Pompe-Novak M., Wrischer M., Ravnikar M. Ultrastructure of chloroplasts in leaves of potato plants infected by potato virus YNTN // *Phyton.* -2001. –Vol.41. – P. 215–226.
- 10 Yamamura Y., Scholthof H-B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions // *Mol Plant Pathol.* – 2005. –Vol.6. – P.491-502.
- 11 Scholthof H-B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* -1995. –Vol.7, №8. – P.1157-1172.
- 12 Rustem T. Omarov, Jorge A. M. Rezende, and Herman B. Scholthof. Host-Specific Generation and Maintenance of Tomato bushy stunt virus Defective Interfering RNAs // *MPML.* -2004. - Vol.17, №.2, -P.195–201.
- 13 Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* -1995. – Vol. 7, № 8. –P. 1157–1172.
- 14 H.-Y. Liu, J. L. Sears, C. Obermeier, G. C. Wisler, E. J. Ryder, and J. E. Duffus. S. T. Koike First Report of Tomato Bushy Stunt Virus Isolated from Lettuce // 1999. *Plant Disease.* Volume 83, Number 3. P.301. [://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.301B](https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.301B)
- 15 Kenneth M. Smith A new virus disease of the tomato// *Annals of Applied Biology* 22: 731, 1935. doi.org/10.1111/j.1744-7348.1935.tb07180.x
- 16 Czosnek H., Laterrot H. A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses // *Archives of Virology.* – 1997. – Vol. 142, № 7. – P. 1391-1406.
- 17 Knorr D.A., Mullin R.H., Hearne P.Q., Morris T.J. De novo generation of defective interfering RNAs of tomato bushy stunt virus by high multiplicity passage // *Virology.* - 1991. –Vol. 181. – P.193-202.
- 18 Hearne P.Q., Knorr D.A., Hillman B.I., Morris T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus // *Virology.* – 1990. –Vol. 177. –P. 141-151.
- 19 Akbassova A.Zh., Omarov R.T., Pozo M.J., Sutula M.Yu., Mukiyanova G.S. Host-dependent symptom development as affected by Tomato bushy stunt virus encoded silencing suppressor // *Phytopathology.* – 2014. – Vol.104, №.11.S.3.5.
- 20 Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological Relevance of a Stable Biochemical Interaction between the Tombusvirus-Encoded P19 and Short Interfering RNAs // *Journal of Virology.* -2006. – Vol.80. – P.3000-3008.
- 21 Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. 2007. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex. *PNAS.* 104:1714-1719.
- 22 Mukiyanova G.S., Akbassova A. Zh., Pozo Maria J., Omarov R.T. 2017. Tomato bushy stunt virus (TBSV) encoded Capcid protein P41 triggers resistance in *Solanum lycopersicum* // *News of the National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan.* -2017. – Vol.1, №319. P.34-43.
- 23 Cooper J. I., Jones A. T. Responses of plants to viruses: Proposals for the use of terms // *Phytopathology.* - 1983. - Vol. 73, No. 2. - P. 127-129.
- 24 Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector. -1995. – Vol.7, №.8. – P.1157-1163.
- 25 Chaerle L., Hagenbeek D., De Bruyne E., Valcke R., Van Der Straeten D. Thermal and chlorophyll-fluorescence imaging distinguish plant–pathogen interactions at an early stage // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – Vol. 45. – P. 887–896.
- 26 Balachandran S., Osmond C.B. Susceptibility of tobacco leaves to photoinhibition following infection with two strains of tobacco mosaic virus under different light and nitrogen nutrition regimes // *Plant Physiol.* – 1994. – Vol. 104. – P. 1051–1057.
- 27 Yinzi Li, Hongguang Cui, Xiaoyan Cui, Aiming Wang. The altered photosynthetic machinery during compatible virus infection // *Virology.* - 2016. - Vol. 17. – P. 19-24.
- 28 Laury Chaerle, Monica Pineda, Remedios Romero-Aranda, Dominique Van Der Straeten, Matilde Baron. Robotized Thermal and Chlorophyll Fluorescence Imaging of Pepper Mild Mottle Virus Infection in *Nicotiana benthamiana* Laury Chaerle, Monica Pineda, Remedios Romero-Aranda, Dominique Van Der Straeten, Matilde Baron // *Plant Cell Physiol.* – Vol.47, №9. – P.1323–1336.

- 29 Almasi A., Ekes M., Gaborjanyi R. Comparison of ultrastructural changes of *Nicotiana benthamiana* infected with three different tobamoviruses // *Acta Phytopath. et Entomol Hung.* – 1996. – Vol. 31. – P. 181–190.
- 30 Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities // *J. Exp. Bot.* – 2004. – Vol. 55. – P. 1607–1621.

А. Акбасова

Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Сорт - специфическое влияние инфекции TBSV вируса на томаты

Аннотация: В данном исследовании изучено влияние инфекции вируса кустистой карликовости томатов (TBSV) на три сорта *Solanum lycopersicum* (томаты) и модельное растение *Nicotiana benthamiana*. Согласно нашим исследованиям, степень заражения TBSV варьируется в зависимости от сорта томатов. Сорта *Better boy* и *Pera* устойчивы, в то время как сорт *Money maker* был толерантен к инфекции TBSV. Эти результаты показывают, что растения могут содержать различные гены устойчивости, которые избирательно реагируют на вирус TBSV и указывают на наличие определенных защитных механизмов внутри вида. Кроме того, анализ, проведенный с использованием системы флуоресцентной визуализации хлорофилла (Chl-FI) и цифрового флуорометра, показал, что, несмотря на отсутствие визуальных симптомов инфекции у сортов томатов, наблюдается повышение уровня вторичных метаболитов и незначительное снижение активности фотосинтеза.

Ключевые слова: Chlorophyll fluorescence imaging, фотосинтез, TBSV, *Solanum lycopersicum* сорт *Money Maker*, *Nicotiana benthamiana*.

А. Акбасова

Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

TBSV вирус инфекциясының қызанақ сұрыпына өзіндік әсері

Аннотация: Бұл зерттеуде біз қызанақтың бұталы ергежейлілік вирусының (TBSV) *Solanum lycopersicum* (томаттар) және *Nicotiana benthamiana* модельдік өсімдігіне әсерін зерттеген. Біздің зерттеулерге сәйкес, TBSV-ң инфекциялау дәрежесі қызанақ сұрыбына байланысты өзгереді. *Better boy* және *Pera* сұрыптары TBSV инфекциялауға тұрақты, ал *Money maker* сұрыбы TBSV инфекциялауға төзімді болды. Бұл нәтижелер өсімдіктерде TBSV вирусына қарсы таңдамалы төзімділіктің бар екендігін және түр ішінде белгілі бір қорғаныс механизмдерінің болуын көрсететін әртүрлі тұрақтылық гендері болуы мүмкін екенін көрсетеді. Бұдан басқа, хлорофиллді (Chl-FI) флуоресцентті визуализациялау және сандық флуорометр жүйесін пайдалана отырып жүргізілген талдау қызанақ сұрыптарында инфекцияның визуалды симптомдарының болмауына қарамастан, екінші реттік метаболиттер деңгейінің жоғарылауы және фотосинтез белсенділігінің шамалы төмендеуі байқалғанын көрсетті.

Түйін сөздер: Chlorophyll fluorescence imaging, фотосинтез, TBSV, *Solanum lycopersicum* *Money Maker* сұрыбы, *Nicotiana benthamiana*.

References

- 1 Brunt A. A., Crabtree M. J., Dallwitz A., Gibbs J., Watson L. Viruses of Plants, Description and lists from the VIDE Database, CAB International., 1284- 1323 (1996).
- 2 Owen P. C. The effect of infection with tobacco etch virus on the rates of respiration and photosynthesis of tobacco leaves, *Ann. Appl. Biol.*, **45**, 327–331 (1957).
- 3 Gunasinghe U., Berger P. Association of potato virus Y gene products with chloroplasts in tobacco, *Mol. Plant. Microbe Interact.*, **4**, 452–457 (1991).
- 4 Balachandran S., Osmond C. B., Daley P. F. Diagnosis of the earliest strain-specific interactions between tobacco mosaic virus and chloroplasts of tobacco leaves in vivo by means of chlorophyll fluorescence imaging, *Plant Physiol.*, **104**, 1059–1065 (1994).
- 5 Almon E., Horowitz M., Wang H. L., Lucas W. J., Zamski E., Wolf S. Phloem-specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein alters carbon metabolism and partitioning in transgenic potato plants, *Plant Physiol.*, **115**, 1599–1607 (1997).
- 6 Otulak K., Chouda M., Bujarski J., Garbaczewska G. The evidence of tobacco rattle virus impact on host plant organelles ultrastructure, *Micron.*, **70**, 7–20 (2015).
- 7 Zhao J., Liu Q., Zhang H., Jia Q., Hong Y., Liu Y. The RubisCO small subunit is involved in Tobamovirus movement and Tm-22-mediated extreme resistance, *Plant Physiol.*, **161**, 374–383 (2013).
- 8 Almósi A., Harsónyi A., Góborjányi R. Photosynthetic alterations of virus infected plants, *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, **36**, 15–29 (2003).
- 9 Pompe-Novak M., Wrischer M., Ravnikar M. Ultrastructure of chloroplasts in leaves of potato plants infected by potato virus YNTN *Phyton.*, **41**, 215–226 (2001).
- 10 Yamamura Y., Scholthof H-B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions, *Mol Plant Pathol.*, **6**, 491-502 (2005).
- 11 Scholthof H-B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector, *Plant Cell.*, **7**(8), 1157-1172 (1995).
- 12 Rustem T. Omarov, Jorge A. M. Rezende, and Herman B. Scholthof. Host-Specific Generation and Maintenance of Tomato bushy stunt virus Defective Interfering RNAs, *MPMI.* – **17**(2), 195–201 (2004)..

- 13 Scholthof H-B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector, *Plant Cell.*, **7**(8), 1157-1172 (1995).
- 14 H.-Y. Liu, J. L. Sears, C. Obermeier, G. C. Wisler, E. J. Ryder, and J. E. Duffus. S. T. Koike First Report of Tomato Bushy Stunt Virus Isolated from Lettuce, *Plant Disease.*, **83**(3), 301-307 (1999).
- 15 Kenneth M. Smith. A new virus disease of the tomato, *Annals of Applied Biology.*, **22**, 731-739 (1935).
- 16 Czosnek H., Laterrot H. A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses, *Archives of Virology.*, **142**(7), 1391-1406 (1997).
- 17 Knorr, D.A., Mullin, R.H., Hearne, P.Q., Morris T.J. De novo generation of defective interfering RNAs of tomato bushy stunt virus by high multiplicity passage, *Virology*, **181**, 193-202 (1991).
- 18 Hearne, P.Q., Knorr, D.A., Hillman, B.I., Morris, T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus, *Virology*, **177**(1), 141-151 (1990).
- 19 Akbassova A.Zh., Omarov R.T., Pozo M.J., Sutula M.Yu., Mukiyanova G.S. 2014. Host-dependent symptom development as affected by Tomato bushy stunt virus encoded silencing suppressor, *Phytopathology*, **104**(1), S.3.5 (2014).
- 20 Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological Relevance of a Stable Biochemical Interaction between the Tombusvirus-Encoded P19 and Short Interfering RNAs, *Journal of Virology*, **80**(6), 3000-3008 (2006).
- 21 Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex, *PNAS*, **104**, 1714-1719 (2007).
- 22 Mukiyanova G.S., Akbassova A. Zh., Pozo Maria J., Omarov R.T. Tomato bushy stunt virus (TBSV) encoded Capcid protein P41 triggers resistance in *Solanum lycopersicum*, *News of the National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan*, **1**(319), 34-43 (2017).
- 23 Cooper J. I., Jones A. T. Responses of plants to viruses: Proposals for the use of terms, *Phytopathology.*, **73**(2), 127-129 (1983).
- 24 H B Scholthof, K B Scholthof, A O Jackson. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector, **7**(8), 1157-1163 (1995).
- 25 Chaerle L., Hagenbeek D., De Bruyne E., Valcke R., Van Der Straeten D. Thermal and chlorophyll-fluorescence imaging distinguish plant-pathogen interactions at an early stage, *Plant Cell Physiol.*, **45**, 887-896 (2004).
- 26 Balachandran S., Osmond C.B. Susceptibility of tobacco leaves to photoinhibition following infection with two strains of tobacco mosaic virus under different light and nitrogen nutrition regimes, *Plant Physiol.*, **104**, 1051-1057 (1994).
- 27 Yinzi Li, Hongguang Cui, Xiaoyan Cui, Aiming Wang. The altered photosynthetic machinery during compatible virus infection, *Virology*, **17**, 19-24 (2016).
- 28 Laury Chaerle, Monica Pineda, Remedios Romero-Aranda, Dominique Van Der Straeten, Matilde Baron. Robotized Thermal and Chlorophyll Fluorescence Imaging of Pepper Mild Mottle Virus Infection in *Nicotiana benthamiana* Laury Chaerle, Monica Pineda, Remedios Romero-Aranda, Dominique Van Der Straeten, Matilde Baron, *Plant Cell Physiol.*, **47**(9), 1323-1336 (2006).
- 29 Almasi A., Ekes M., Gaborjanyi R. Comparison of ultrastructural changes of *Nicotiana benthamiana* infected with three different tobamoviruses, *Acta Phytopath. et Entomol Hung.*, **31**, 181-190 (1996).
- 30 Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities, *J. Exp. Bot.*, **55**, 1607-1621 (2004).

Сведения об авторе:

Акбасова А. Ж. – PhD., «Биотехнология және микробиология» кафедрасының доцент м.а., Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

Акбасова А.Ж. - PhD., Senior Teaching Assistant of the Department of "Biotechnology and Microbiology", L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 15.05.2017

S.A. Abiyev¹, R.Z. Asilhanova², R.N. Ziyahanova³, A.K. Baubekova⁴

^{1,3,4} *L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan*

² *S.Seifullin Agrotechnical University, Astana, Kazakhstan*

(E-mail: ¹ *abiyev_sa@enu.kz*, ² *nauarova@mail.ru*, ³ *ziahanova.raushan@yandex.ru*,

⁴ *aizhan_22.02@inbox.ru*)

Plant diseases of Green Zone in Astana

Abstract: According to the results of the first year of the survey, abiotic and biotic diseases of trees and shrubs of the Green Zone around the city of Astana are shown. Surveys of green belt forest plantations were carried out during the whole vegetation period of 2018. The overall condition of the green belt forest plantations (vital and phytopathological) is generally good. Abiotic diseases of forest plantations associated with soil and local climatic conditions are more common in the western and north-western parts of the green belt. Diseases of a biotic nature are rarely observed in all forest farms, and their occurrence depends mainly on the moisture factor of locality, species and plant species in specific areas.

Keywords: green areas, green belt, phytopathogenic organisms, morphometry, monitoring, identification.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-19-25>

From the day of moving the capital of the republic to Akmola, by a new name Astana, the priority task was to rebuild the former mediocre city into a modern, with original architectural structures, surrounded with green not only from the inside, but also from the outside. For the record time according to the historical standards, Akmola has changed beyond recognition, in its place a new Eurasian city appeared - the pride of the nation, a symbol of sovereign Kazakhstan. The master plan for the development of Astana, developed under the direct control of the country's president, included a project to create a green belt around 100 thousand hectares around the Capital until 2020. This year, the area of man-made forest around the city exceeded 85 thousand hectares. We can say with confidence that the man-made forest has practically surrounded our young capital. In the future, the task will be to combine a man-made forest with the natural forest Borovoe and Shortandy [1,2].

Today, more than 9 million trees and about 2 million shrubs grow in planted forests. Currently, a real forest has already formed in the Green Zone. Creation in the steppe, in the conditions of a sharply continental climate of an artificial forest on such a huge area is a unique case. The experiment that first appeared utopian has now become a reality - in just 20 years a large forest has appeared in Sary Arka. This is a great result of a large team of specialists and workers headed by General Director of RSE "Zhasyl aimak" ZH.O. Suyundikov. Every year, pheasants, roe, deer and other are released into this man-made forest, and the forest is inhabited by the local fauna (hares, foxes, birds) representatives. In the green belt "Safari Park" is opened on an area of 300 hectares for the rest of the townspeople and visiting tourists. The green tracts already have their beneficial effect on the microclimate of the capital, and the strength and frequency of gusting winds have decreased. In 2014-2016 the implementation of the second phase of this unique project has begun (planting 1.1 million pieces of new seedlings) [1,2].

It should be noted that the implementation of the given unique project provides not only planting the necessary species of plants, but also appropriate care for them. Among the latter, of considerable importance is the prevention and control of pests of forestry [3,4]. At the same time, it is necessary to take into account the fact that in the creation of the forest belt, forest species are used not only in this region, but also in non-regional ones, which is fraught with introducing unusual new pathogenic organisms for the area. The latter, in combination with native species, can form a new complex of forest pests.

Harmful organisms (pests and diseases) have a negative impact on the vital condition of the host plant, reduces its resistance to adverse environmental factors, reduces the age and ultimately leads

to premature death. If timely measures are not taken to eliminate or treat such diseased plants, they, in turn, themselves become sources of infection and the spread of disease. Therefore, it is extremely important to conduct a phytosanitary assessment of the state of forest plantations of the Green Zone of Astana, for the creation of which a lot of financial resources and human labor were invested.

Research methods. The study of the phytopathological state of greenery in the green belt of Astana was carried out by route surveys during the entire vegetation season, and disease development was monitored in model parts. Locations of parts with diseased plants were noted with the help of GPS, and photographing of the affected plant organs was carried out using a Canon digital camera.

Identification of identified pathogenic organisms was carried out on the basis of their morphometric characteristics.

The descriptions of isolated phytopathogenic organisms were carried out on the basis of their morphometric characteristics using an Olympus BH-2 microscope with a built-in Canon camera and displaying an image on a computer screen, as well as measuring objects in the MS Excel dialog box with Camera data.

Problem overview. Fungal diseases (powdery mildew, rust fungi, shytte pines, black, blotchiness, scab, deformation, mosaic, necrosis of the bark, cancer, wilt, rot, witches' brooms, burns) are most common on woody and shrubby plants, bacterial and viral.

The causes of noncommunicable diseases can be environmental factors that adversely affect the growth and development of plants. These include adverse meteorological and soil conditions, environmental pollution, recreational loads and other anthropogenic factors.

Common Schutte (the causative agent is the *Lophodermium seditiosum* mushroom) usually affects seedlings and pine seedlings up to 6 years of age. In the spring, the affected needles turn red, and the sporulation of the fungus forms in the form of numerous small black strokes. In summer, the fruit bodies of the pathogen appear on the needles, having the appearance of oval black pads, often connected by ends [4].

Outbreaks of other various diseases, among which *bacterial carcinoma* are the most dangerous, make a significant contribution to the weakening of plantings. Currently, this disease of birch forests is widespread in many regions of the European part of Russia and Belarus [6]. In Kazakhstan, only small foci were noted earlier, but after 2010 the disease became widespread, and the course of the disease became quite aggressive, which was allegedly triggered by drought, which greatly weakened the plant defense mechanisms. In Kazakhstan, this disease began to be studied by Mironenko O.N. and Kabanova S.A., since huge areas of birch stands were under the threat of death [6].

Bacteria cause spotting, rot, necrosis and vascular diseases. Examples of widely spread bacterial diseases of tree species are transverse oak cancer, lumpy pine cancer, wet poplar ulcer cancer [7,8].

Viral diseases affecting woody plants are not of great economic importance [4].

Results and discussion. The route surveys of the Green Zone were carried out throughout the growing season. Forest plantations of all 7 forest areas were surveyed, the area of each of which is on average 10 12 thousand hectares, and the total - more than 85 thousand hectares. The survey routes were coordinated with forestry workers so that the selected blocks would be, by all parameters, representative forest plantations of the respective forest area.

The survey was started with forest plantations along the «Astana-Karaganda» highway near the villages of Koigeldy, Volgodonovka, Arnasay, Babatay and Shoptikol. In general, the common state of forest plantations in the surveyed area is good. Due to the abundant rainfall in spring and the first half of summer, the moisture in the soil was sufficient for the growing season. It should be noted that plantings are properly taken care of, the unoccupied plantings of the strip between the edges are plowed and kept as steam. Chemical treatments are carried out against the moth caterpillars, the mass outbreaks of which in the current year took place in the Vyacheslavskoe forest area in spring on the feathered and branchy elm. The damage from this pest would have been much more significant if not for the urgent measures taken by forestry workers in chemical treatment of the affected area.

Kyzylzhar forestry: The total area is 12090 hectares. On the territory of the forest there are old forest plantations 50-60th of the last century. New plantings were started from the day of the organization of the RSE "Zhasyl aimak".

Dogrose doggy. Some wild rose bushes are strongly affected by rust to a great degree. Leaves, branches with a strong curvature and deformation are affected. It turned out that in such bushes 85-90% of branches were affected.

Uredinia on the affected organs of plants of yellow-rusty color, merging, powder, completely covering the stems, integumentary tissues of plants in such places are torn. Crowded mass of urediniospores deposited on healthy parts of plants give the bush a fiery yellow color. In 40-45% of affected plants, rust pustules were found only on the leaves, the stems remained unaffected. Urediniospores are round, slightly oval, 15-20 microns in diameter, the spore shell is dark, even, without thorns.

The result of the identification of the causative agent of the disease - *Phragmidium disciflorum* (Tode) Jams.- rust fungus, often affecting wild roses in the conditions of Central Asia.

Siberian pine. Young landings. 40-50% of plants from surveyed are affected. Individual plants are affected with an intensity of up to 70% or more and die. On young branches needles from light brown to rusty brown. Needles are struck, mainly at the base of branches, on individual branches all needles are struck, without exception. There are plants partially affected (separate sections of branches) or completely. The preliminary diagnosis is *shutte*.

Arshala forestry. The total area of forest landings are 3363 hectares. Plantings were made in 2012-2013.

Elm pinnate and branchy. In 40% of the plants, 80% of the leaves are affected by the *caterpillar of the moth variegated* - *Calospilos sylvata Scop.* The leaves are wrinkled, as if charred. Chemical treatments against pest insecticides are held.

The rest of the trees and shrubs in the planted forests are in good condition, no diseases were found on them.

Vyacheslav forestry. The total area of forestry is 13,369 ha. Plantings were made from 2004 to 2017.

Pinnate and branchy elm. (section 140). Strongly affected by the *moth*. On individual plants 70-80% of leaves are affected. The general condition of such plants is highly depressed.

Common Maple (section 140). 20-30% of the leaves are completely yellowed, on the surface of such leaves are many dark brown spots with a black bordering rim. Sizes of spots 1-2 mm, scattered, in groups, sometimes merging. Microscopic examination of fungal structures is not detected. Spots, possibly of bacterial origin. On the green leaves spots are not marked.

Currant golden (section 140). 10-15% of leaves are spotted with dark green endings or with a wide dark rim, oval and angular shape, 2-3x3-3,5 mm, possibly of mushroom origin.

Astana forestry. The total forest area is 9636 hectares. Plantings were made in 2003 (inter-wing plantings – in 2016), in 2009–2012 and 2016–2017.

Kazakhstan poplar (section 7). At the base of small branches of clusters of crowded, shriveled leaves, 10-13 times smaller than normal, normal (green) and dark brown colors. At the end of such branches, starting from the middle, normal, normal-sized leaves are developed (3,5-5,5 cm in diameter). The preliminary diagnosis is “*witch’s broom*”.

Hawthorn the greenish (section 7). Mass damage of leaves and fruits. Branches from fruits affected by 80-90%, turned into black, are shriveled and are not developed formations. On such branches, the leaves are completely dried, yellowish brown. The diagnosis of a bacterial burn (pathogen - *Erwinia amylovora*). The eroded areas of the leaf at the edges are light yellow, surrounded by a dark brown rim. No other abnormalities are found.

In the row of *birch* (section 12) there are many dead plants. The causes are possibly related to abiotic habitat factors (frostbite in winter, lack of moisture, aggressive groundwater). The biotic factor in the death of adult plants (2010, planting) is not visually observed. In some plots in the row of birch, individual plants grow normally, although even here there are plants with partially dead branches.

Common birch (section 12). On 4-10% of the leaves yellow-brown spots are marked, occupying up to 40-75% of the leaf surface. There is no obvious pattern in the location of the spots: they occupy either one half of the leaf from the main vein, or the upper half of the leaf blade, including both sides of the main vein, etc. Fungal structures are not found.

Black currant (section 12). 70-80% of the leaves, starting from the edges of the lamina, going to the middle, are eaten by insects.

In a *pine* (section 32) in places, in a number of plants, individual branches entirely or the lower part of branches are dried, needles easily fall off. An external examination of the needles of an infectious nature is not observed. The upper (3/4) part of the plant develops normally, while maintaining intense green color.

In *willow* (section 33), in some areas, 10-15% of the leaves of the plants yellowed, possibly associated with abiotic environmental factors. There are plants with dried lower branches. In separate scenes among the *poplars*, 45-50% of the plants died, there are rows with completely dead poplars. No signs of infection are observed on such dried plants. On the *sucker narrow-leaved* in separate rows on yellowed leaves there are dark, dark brown spots, and in other rows of the plant without signs of damage. In this quarter, there are areas with completely dead plantings of poplars and willows, and next to planting willows in good condition, which clearly indicates the mosaic pattern of the soil conditions of the area.

Loch narrow-leaved (section 33). 40-60% of the leaves of the loch are spotted with gray-brown spotting, arranged in groups or randomly. In the locations of the spots the leaf tissue is light yellow. Microscopic examination of the presence of obvious fungal structures was not detected.

The Forest Batis. The total area of the forest area is 10088 ha. Plantings were made in 2007-2010 and 2016-2018. Interculse landings were made in the last 3 years: 2016 (951 ha), 2017 (1042 ha) and 2018 (342 ha).

Willow (section 3). In separate wings series IV, mainly (90%) dies; for a poplar branch single yellowed leaves on the stem are bacterial canker. The status of the other breeds normal. In a protective strip, along the road to Kustanai, in connection dryness.

On birch (section 3) 40-50% of leaves are completely or partially yellowed. In many scenes the whole row or separate sites in a row with a birch completely were lost. The same pattern, although to a lesser extent, is observed in the Tatar honeysuckle, and occasionally, maple. In General, in this quarter in some places there are large areas with entirely dead plants of abiotic nature. This shows that the soils of these places are clearly not suitable for planting the above-mentioned species, perhaps, and other trees. Apparently, in this section of the quarter aggressive groundwater lies close to the surface of the soil. This is indicated by the fact that all plants have taken root during planting and even for several years grew normally until their roots reached the salt ground water. This can be seen in their height and volume of the crown. Then all at once died. This suggests the need for this area of land agrochemical analysis of the soil, to address the issue of re-planting.

In quarter 4 marked area where the area of 20x700 m. all plantings were dead. This is the same case as in the 2nd quarter of the forestry.

In section 6 separate areas in the birch noted marginal yellowing of leaves. There are scenes, where it sometimes all the planting died. In quarter 7 the condition of plantings were very good.

In section 18, there are places where there are bald areas with a partially dead maple.

Ereymantau forestry: Total area of forest 6381,6 hectares, of which forests occupied 5803 ha. Forest area is divided into 49 blocks. Plantings were made in 2012, 2014 and 2015.

Acacia yellow (section 2). The leaf surface on the lower side is covered by 70-75% dark brown institutions. Epidermis of plants are broken, spots convex, 0,2-1 mm. in diameter. On the branches there are large, single, merging pustules. On the upper side of the leaf blade there are single pustules or pustules missing. Urediniospores are light brown, rounded, slightly oval, ovoid. Teliospores (18.09.18) were detected. Diagnosis: rust of acacia, the causative agent – the fungus *Melampsora ribesii purpureae* Kleb.

Poplar Kazakhstan (section 7). Landing in 2015. In this series, the majority of plants in the upper part, mainly died, but from the root of the recovered shoots. The cause of death-perhaps freezing, or due to soil.

Poplar pyramidal (section 7). On individual leaves on both sides of the leaf, along the veins of the fabric painted in whitish-gray color. Spots on them are depressed, the surface of the spots is felt-like, dark. On the underside of the leaf, along the veins, on the yellowed areas of inclusions of

many small, dark, almost black, powdering spots. Diagnosis: rust of poplar leaves, the causative agent-variegated rust of the genus *Melampsora*: *M. larici-tremulae* and *M. Pinitorqua*

Honeysuckle Tatar (section 9). Plantings are in 2014. Part of a Bush with brightly yellowed leaves, on some bushes the tips of branches with curvatures downwards and with numerous small whorls of leaves of the "witch's broom" type. These small leaves are shriveled, dried up, completely blackened. Preliminary diagnosis: viral or bacterial infection. On the healthy branches of some plants, the upper side of the leaves, starting from the tip, is covered with a dense soot mass, occupying up to 80% of the interventricular surface. Identification of the causative agent continues.

Loch narrow-leaved (section 10). Plantings are in 2015. On some plants, the upper branches on the yellowing leaves are blurred dark brown spots. On the green areas of the leaf blade, on the upper side of the leaf there are many small, white, slightly convex, filmy spots (0.1-0.2 mm.) of various shapes.

Maple ash-tree and poplar pyramidal (section 16). In a large area of planting, the plants dried out, perhaps from soil salinity.

Broad-leaved elm (section 16). On the lower side of the leaves are dark brown, almost black, indistinct spots (0.4 - 3-4 mm.) with compacted, whitish, isolated spots in the center. Such spots are located on the edges of the leaf, bordering the entire leaf. The inner parts of the leaf surface are healthy.

Black currant (section 20). On the lower side of the leaf blade, mainly at the base, red, as aging brownish, blurred spots. Large spots merging, sets of small spots (2-3 mm.) single. On some large spots the Central part is occupied by rounded, oval, compacted, necrotic, convex, whitish-yellowish, rather large spots. On individual leaves areas with spots occupy up to 50-70% of the leaf surface.

Shortandy forestry. The total area of forest are 12374,9 ha. Forest area is divided into 49 blocks. Landings are made since 2003. Examined planting 7, 8, 10, 17, 30 quarters.

Loch narrow-leaved (section 7). Plantings of 2006. In some plants the tops, and especially the side branches are dry, and some plants are completely dead, the leaves are wilted, there are many different sizes of spots on the green leaves.

In the quarter there are 17 plantings of pine trees of 50-ies of the last century. Among them there are ground-based mushrooms, buttermilk and cheese-eaters. Separate branches of pines with completely yellowed and dried needles, which are easily separated from the branches, fall off. Near, on the same plants normal healthy branches. Yellowing needles begins with the tip, spreading to the base. The latter are weakly attached to the branches, easily separated (fall off).

Ordinary Birches (section 17). On yellowed and green leaves there are rounded, slightly oval spots of dark brown color with clearly defined edges. Green areas of the leaf are preserved around the spots with a narrow strip. Spots are located on the upper side of the leaf, translucent on the lower side of the leaf cloudy color. Affected leaves 1-6 spots on a leaf, size of 2-4 mm. These spots have three colored zones: green exterior, medium dark and the inner grayish-black. Microscopic examination does not detect fungal and other structures.

In conclusion, it should be noted that the general condition of forest planting in Green zone is satisfactory, and if we take into account the complex soil and climatic conditions of the zone location area, it can be estimated very good.

In all forest areas there are landings, where some plants of some species are sick and even die, mainly from abiotic environmental factors. There is an occasional sickness and biotic nature. The General picture is that the diseases of forest planting of abiotic character are more in the Western and North-Western parts of the green zone. As for biotic diseases, their occurrence depends on the humidity factor of the area and on the species or species of plants in specific conditions.

References

- 1 Залесов С.В., Азбаев Б.О., Рахимжанов А.Н., Ражанов М.Р., Суяндиков Ж.О. Искусственное лесоразведение вокруг г. Астаны // Современные проблемы науки и образования -2014. - № 4.- С. 33-45.
- 2 Азбаев Б.О., Рахимжанов А.Н., Ражанов М.Р., Суяндиков Ж.О., Залесов С.В. Эффективность лесовыращивания вокруг г. Астаны // Научное творчество молодежи – лесному комплексу России: матер. X Всерос. науч.-техн. конф., -Екатеринбург, 2014.-С. 170 – 173

- 3 Черпаков В.В. Изучение причин усыхания и гибели ильмовых пород на Дальнем Востоке // Актуальные проблемы лесного комплекса-2011.- № 30.-С.104-108.
- 4 Ахматович, Н. А. Управление рисками в Республике Татарстан: вредители и болезни основных лесообразующих пород // Лесной журнал – 2015. – № 1. – С. 33–38.
- 5 Рахимова Е.В., Нам Г.А., Абиев С.А. и др. Краткий иллюстрированный определитель ржавчинных грибов Казахстана. –Алматы.: 2015.- 307 с.
- 6 Мироненко О. Н., Кабанова С. А., Баранов О. Ю., Данченко М. А. Бактериальное заболевание березняков в Казахстане // Вестник Поволжского государственного технологического университета -2016. –Т.31 № 3.- С. 87–93.
- 7 Швец М.В. Бактериальная водянка березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в Житомирском Полесье Украины // Лесной журнал- 2017. -№ 4. -С. 84–94.
- 8 Grulke, N. E. The nexus of host and pathogen phenology: understanding the disease triangle with climate change // New Phytologist. –2010. – № 189. – С. 9–11.

С.А. Абиев¹, Р.З. Асилханова², Р.Н. Зияханова³, А.К. Баубекова⁴

¹³⁴ Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

² С. Сейфуллин атындағы Қазақ Агротехникалық университеті, Астана, Қазақстан

Астана қаласының Жасыл белдеміндегі өсімдік аурулары

Аннотация: Мақалада Жасыл белдемнің фитосанитарлық ахуалына баға берілген, ондағы ағаш-бұталарды зақымдайтын ауруларды және олардың түрлері анықталған. Жасыл белдемнің барлық 7 орман шаруашылығының жасыл отырғызылымдары фитопатологиялық тұрғыда тексерілді. Жасыл белдемнің жалпы жағдайы толық қанағаттанарлық. Абиоттық аурулар (топырақтық, термиялық, ылғалдылық жағдайларға байланысты) жасыл белдемнің батыс және солтүстік-батыс бөлігінде көбірек те, ал биотикалық сипаттағы аурулардың кездесуі, негізінен, белдем учаскелерінің ылғалдылық деңгейіне және ондағы өсімдіктердің түрлеріне тікелей байланысты.

Түйін сөздер: жасыл желек, жасыл белдем, фитопатогенді организмдер, морфометрия, мониторинг, идентификация.

С.А. Абиев¹, Р.З. Асилханова², Р.Н. Зияханова³, А.К. Баубекова⁴

¹³⁴ Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

² Агротехнический университет имени С.Сейфуллина, Астана, Казахстан

Болезни растений в Зеленом поясе города Астаны

Аннотация: По результатам первого года обследования показаны абиотические и биотические болезни древесно-кустарниковых растений Зеленого пояса вокруг г. Астаны. Обследования лесонасаждений Зеленого пояса проводились в течение всего вегетационного периода. Общее состояние лесопосадок Зеленого пояса (жизненное и фитопатологическое) в целом хорошее. Болезней лесопосадок абиотического характера, связанных с почвенными и местными климатическими условиями больше в западной и северо-западной частях зеленого пояса. Болезни биотического характера изредка отмечаются во всех лесных хозяйствах и их встречаемость зависит, в основном, от фактора влажности местности, пород и вида растений в конкретных участках.

Ключевые слова: зеленые насаждения, зеленый пояс, фитопатогенные организмы, морфометрия, мониторинг, идентификация.

References

- 1 Zalesov S.V., Azbaev B.O., Rahimzhanov A.N., Razhanov M.R., Sujundikov Zh.O. Искусственное лесоразведение вокруг г. Астаны [Artificial forestry around Astana], Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education], 4, 33-45(2014). [in Russian]
- 2 Azbaev B.O., Rahimzhanov A.N., Razhanov M.R., Sujundikov Zh.O., Zalesov S.V. Эффективност' lesovyrashhivaniya vokrug g. Astany [Efficiency of forest growing around Astana]. Nauchnoe tvorchestvo molodezhi – lesnomu kompleksu Rossii: mater. X Vseros. nauch.-tehn. konf. [Scientific creativity of youth - forest complex of Russia: mater. X Vseros. scientific and technical conf.]. Yekaterinburg, 2014, pp. 170 – 173.
- 3 Cherpakov V.V. Izuchenie prichin usyhanija i gibeli il'movyh porod na Dal'nem Vostoke [Studying the causes of drying and death of the elm species in the Far East], Aktual'nye problemy lesnogo kompleksa [Actual problems of the forest complex], 30, 104-108 (2011). [in Russian]
- 4 Ahmatovich, N. A. Upravlenie riskami v Respublike Tatarstan: vrediteli i bolezni osnovnyh lesoobrazujushhih porod [Risk management in the Republic of Tatarstan: pests and diseases of the main forest-forming species], Lesnoi zhurnal [Forest Journal], 1, 33-38(2015) . [in Russian]
- 5 Rahimova E.V., Nam G.A., Abiev S.A., i dr. Kratkij illjustrirovannyj opredelitel' rzhavchinnyh gribov Kazahstana [Brief illustrated identifier of rust fungi of Kazakhstan] (Almaty,2015).
- 6 Mironenko O. N., Kabanova S. A., Baranov O. Ju., Danchenko M. A. Bakterial'noe zabojevanie bereznejakov v Kazahstane [Bacterial disease of birch forests in Kazakhstan], Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tehnologicheskogo univepsiteta [Bulletin of the Volga State University of Technology], 3(31), 87-93 (2016). [in Russian]
- 7 Shvec M.V. Bakterial'naja vodjanka berezy povisloy (*Betula pendula* Roth.) v Zhitomirskom Poles'e Ukrainy [Bacterial drowsy of birch (*Betula pendula* Roth.) In Zhytomyr Polesie of Ukraine], Lesnoi zhurnal [Forest Journal], 4, 84-94 (2017). [in Russian]

8 Grulke, N. E. Svyaz' fenologii khozyaina i patogena: ponimaniye treugol'nika bolezni s izmeneniyem klimata [The nexus of host and pathogen phenology: understanding the disease triangle with climate change], Novyy fitolog [New Phytologist], 189, 9-11(2010). [in English]

Сведения об авторах:

Абиев С.А. -б.ғ.д., Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті "Жалпы биология және геномика" кафедрасының профессоры, Астана, Қазақстан.

Асилханова Р.З. - С. Сейфуллин атындағы Қазақ Агротехикалық университеті "Биологиялық ғылымдар" кафедрасының аға оқытушысы, PhD. Астана, Қазақстан.

Зияханова Р.Н. - Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті "Жалпы биология және геномика" кафедрасының аға зертханашысы, Астана, Қазақстан.

Баубекова А.К. - Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті "Жалпы биология және геномика" кафедрасының PhD докторанты, Астана, Қазақстан.

Abiev S.A. - Doctor of Biological Sciences, Professor of Department of General Biology and Genomics, L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Asilchanova R.Z. - PhD. of Biological Sciences, Senior Lecturer of the Department of Biological Sciences, S. Seifullin Kazakh Agro Technical university, Astana, Kazakhstan

Ziakhanova R.N. - laboratory assistant of Department of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Baubekova A.K. - Doctoral Student of General Biology and Genomics, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

Поступила в редакцию 24.12.2018

К.К. Богуспаев¹, Д.Г. Фалеев¹, Ж.Ж. Мырзагалиев¹, С.К. Наекова², К.М. Аубакирова², М.Т. Мырзабаева³, З. Инсепов⁴, З. Аликулов², Ж.Ш. Ургалиев², Ш.Е. Арыстанова²

¹ Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан

² Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана, Казахстан

³ Казахский аграрный университет им. С.Сейфуллина, Астана, Казахстан

⁴ Назарбаев университет, Астана, Казахстан

(E-mail: ¹ kboguspayev@yandex.kz, ² n-saltan@mail.ru, ² aubakirova_km@enu.kz, ³ malikamyrgmail.com, ¹ zer-kaz@mail.ru)

Влияние различных концентраций диатомита на степень микотрофности ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

Аннотация: Внесение различных концентраций диатомита (от 1,5 до 3%) в почвогрунт приводило к повышению количества арбускулярных микоризных грибов в коре корня ячменя сорта «Байшешек». Наибольшая микотрофность была выявлена при внесении диатомита в концентрации 10%. А дальнейшее повышение концентрации диатомита приводило к некоторому снижению степени микотрофности ячменя. Сам диатомит и его сочетание с инокулюмом не повлияли на высоту проростков ячменя. В то же время при внесении различных концентраций диатомита от 1,5 до 10% выявлена корреляция между степенью микотрофности и сухой массой надземной части растений. Полученные в ходе проведения исследования данные могут быть использованы в ходе разработки биотехнологий, направленных на повышение почвенного плодородия почв и урожайности сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: ячмень, диатомит, арбускулярный микоризный гриб, инокулюм, микотрофные растения

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-26-32>

Введение. Обширные территории Казахстана занимают сельскохозяйственные угодья, характеризующиеся истощением плодородного слоя, и как следствие снижением продуктивности растений, растущих на них. Решение проблемы повышения урожайности нарушенных земель невозможно без разработки новых, рентабельных экологических биотехнологий, в частности, без использования различных органических и минеральных удобрений природного происхождения (диатомит) и почвенной микрофлоры (бактерий, микроскопических водорослей и грибов).

Эндомикоризные грибы, образующие микоризы арбускулярного типа с корнями высших растений являются перспективным объектом сельскохозяйственной биотехнологии. Арбускулярная микориза — это симбиоз между высшими растениями и грибами отдела *Glomeromycota*, локализованными в корнях растения-хозяина, в котором продукты фотосинтеза перемещаются от растения к грибу, а неорганические элементы — от гриба к растению [1]. Микоризы арбускулярного типа имеют широкое географическое распространение и встречаются в природе более чем у 90% видов растений. Основное функциональное значение арбускулярных микоризных грибов (АМГ) состоит в обеспечении растений соединениями фосфора, которое происходит в ходе активного обмена между грибом-микоризообразователем и растением-хозяином [2, 3]. Кроме того, АМГ повышают устойчивость растений к недостатку влаги, засолению почв, загрязнению тяжелыми металлами, радионуклидами и воздействию фитопатогенов [4]. Микоризы арбускулярного типа оказывают положительное влияние как на отдельные экземпляры растений, так и на целые растительные сообщества повышая их устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды, гомеостаз и продуктивность.

Диатомит - кремний содержащее минеральное удобрение природного происхождения. Многочисленными исследованиями подтверждается положительное влияние нетрадиционных удобрительных веществ, в качестве которых рассматривают, в том числе, кремний содержащие

агроруды, в частности, диатомиты. Их действие изучается на отдельных культурах агрофитоценоза, затрагивая особенности питательного режима почвы. Известно, например, что они способствуют повышению урожайности культурных растений, улучшая качество растительной продукции, обладают ростстимулирующей функцией в отношении растительного сообщества, а также приводят к увеличению содержания в почве подвижных форм азота, фосфора и калия [5, 6, 7]. В литературе, однако, редко встречаются работы, содержащие результаты комплексной оценки влияния кремнийсодержащих материалов на почвенную экосистему, включающую не только культурный фитоценоз, но и микробиоценоз.

В связи с этим возникает необходимость изучения влияния диатомита на ростовые показатели сельскохозяйственных растений, их урожайность, зеленую массу, а также на микробиоценоз, как показатель экологического состояния почвы. Совместное использование микоризных грибов и диатомита имеет реальные перспективы для разработки биотехнологий, направленных на повышение плодородия почв и урожайности сельскохозяйственных культур, в частности злаков. Поэтому целью настоящей работы было изучение влияния различных концентраций диатомита на ростовые показатели и степень микотрофности ячменя (*Hordeum vulgare*) сорта «Байшешек».

Методы исследования. Объект исследования - ячмень обыкновенный – *Hordeum vulgare* L., сорта «Байшешек», представитель семейства злаков (*Poaceae*). Семена ячменя стерилизовали в 0,5% растворе перманганата калия (10 минут) и высевали в пластиковые емкости объемом 150 мл содержащие почвогрунт. Почвогрунт готовили из смеси крупнозернистого, мытого речного песка и вермикулита в соотношении 1:1.

В экспериментах использовали образец диатомита, доставленного из Мугалжарского месторождения Актюбинской области Казахстана. Диатомит вносили из расчета 1–1,5%; 2–3%; 3–10% и 4–20% от объема почвогрунта, контролем служил почвогрунт без диатомита. Инокулом арбускулярных микоризных грибов (АМГ) вносили в почвогрунт и тщательно перемешивали. Опыт проводили в семикратной повторности.

Растения выращивали в течение 60 суток (2 месяца), извлекали из грунта, сушили в сушильном шкафу (60⁰ С). Измеряли высоту и сухую массу надземной части растений. Для изучения степени микотрофности отбирали тонкие корни (толщина не более 1мм), тщательно отмывали водопроводной водой, мацерировали на водяной бане в 10% растворе КОН в пластиковых контейнерах для биологических образцов. Отмытые мацерированные корни окрашивали трипановым синим. Прессованные препараты корней готовили с использованием глицерина. Степень микотрофности оценивали по пятибалльной шкале по методу Селиванова - от 0 до 5 баллов [8]. Для анализа использовали бинокулярный микроскоп Микромед.

Результаты и их обсуждение. Микроскопирование образцов корневых систем *H.vulgare*, выполненное для контроля чистоты эксперимента в вариантах опыта без внесения спор эндомикоризных грибов не выявило структур, характерных для гриба-микоризообразователя. Вместе с тем, в ходе проведения микроскопирования образцов корней ячменя сорта «Байшешек» во всех вариантах опыта с внесением инокулюма гриба микоризообразователя были выявлены структуры характерные для грибов, образующих микоризы арбускулярного типа: несептированный мицелий, везикулы, аппрессории и арбускулы (рис. 1). Частота встречаемости микоризной инфекции в изученных образцах составила 100 %.

Наименьшая степень микотрофности была выявлена в контроле - $0,40 \pm 0,05$ балла (рис. 2). В данном варианте опыта в коре корня были выявлены экземпляры с единичными гифами, было много участков корней, не инфицированных грибом-микоризообразователем. Везикулы и арбускулы встречались крайне редко.

Внесение различных концентраций диатомита (от 1,5 до 20%) приводило к заметному повышению обилия структур арбускулярных микоризных грибов в коре корня изученных растений. По сравнению с контролем степень микотрофности значительно повышалась - в 1,5 - 3 раза. Так, внесение диатомита в концентрации 1,5 % способствовало заметному повышению (почти в 1,5 раза по сравнению с контролем) степени микотрофности изученных растений – в среднем до $0,57 \pm 0,06$ балла. Повышение концентрации диатомита до 3% вызывало еще большее повышение степени микотрофности растений ячменя. Данный показатель в этом

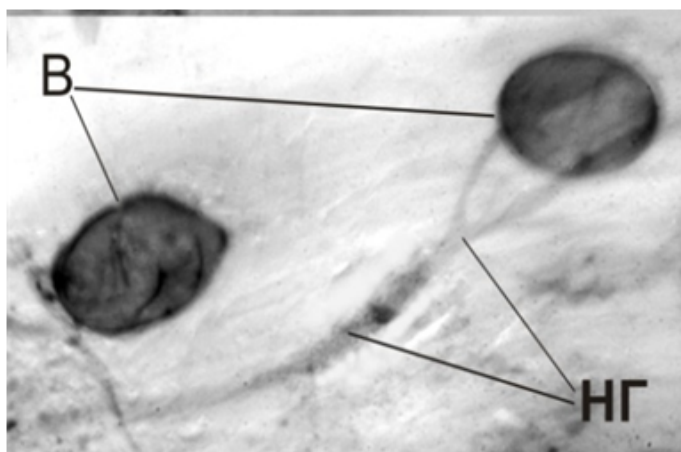


Рисунок 1 – Внутрикорневые структуры гриба-микоризообразователя: везикулы (В) и несептированные гифы (НГ) в корнях ячменя

варианте опыта был почти в 2 раза выше, чем в контроле, составив в среднем $0,79 \pm 0,08$ балла (рис. 2). Наибольшее значение степени микотрофности было выявлено при внесении диатомита в концентрации 10%. Степень микотрофности в данном варианте опыта достигал в среднем $1,12 \pm 0,13$ балла, что в 2,8 раза больше, чем в контроле (рис. 2).

Дальнейшее повышение концентрации диатомита, до 20%, приводило к некоторому снижению степени микотрофности ячменя. В этом варианте эксперимента степень микотрофности составила в среднем $0,83 \pm 0,09$ балла, что в 2 раза больше, чем в контроле и практически соответствует показателю в варианте с внесением диатомита в концентрации 3% (рис. 2). Следовательно, использование диатомита в лабораторных условиях для стимулирования процесса микоризообразования в корнях микотрофных растений наиболее рентабельно в концентрациях до 10%.

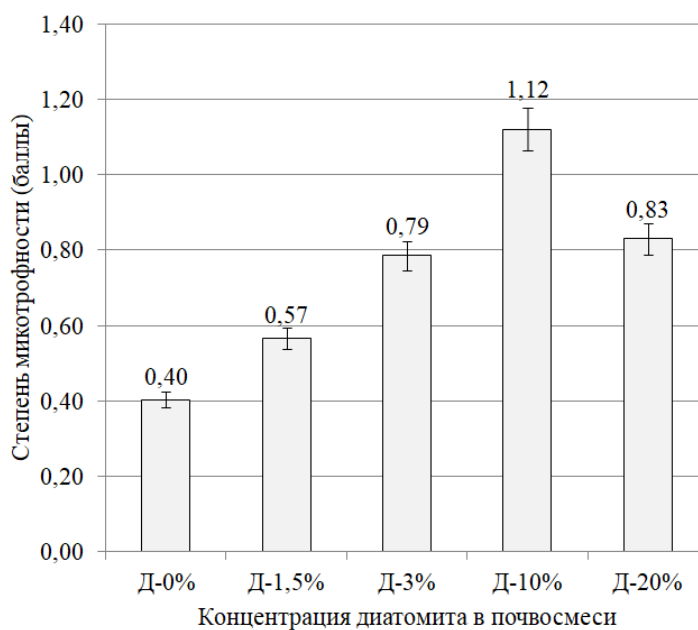


Рисунок 2 – Влияние различных концентраций диатомита на степень микотрофности растений ячменя

Исследования по изучению влияния самого диатомита и его сочетание с инокулюмом гриба-микоризообразователя на высоту ячменя показали, что растения ячменя были мало отзывчивы на внесение диатомита.

Вариант эксперимента	Концентрация диатомита				
	0%	1,5%	3%	10%	20%
	Высота растений (мм)				
Не микоризные растения	264,7±15,7	269,3±20,0	259,6±16,9	279,6±21,0	261,4±21,3
Микоризные растения	307,7±21,1	290,4±22,5	269,7±18,1	279,1±20,9	277,0±25,6

Таблица 1 – Влияние различных концентраций диатомита на высоту микоризных и не микоризных растений ячменя

Внесение инокулюма грибов, образующих микоризу арбускулярного типа, способствовало существенному улучшению высоты исследованных растений. При внесении диатомита у микоризных растений наблюдалось некоторое снижение средних показателей высоты – заметное снижение данного показателя было выявлено только при внесении 3% диатомита. В то же время внесение диатомита в концентрации 10 и 20 % не оказывало существенного воздействия на высоту растений по сравнению с контролем (рис.3, таб. 1).

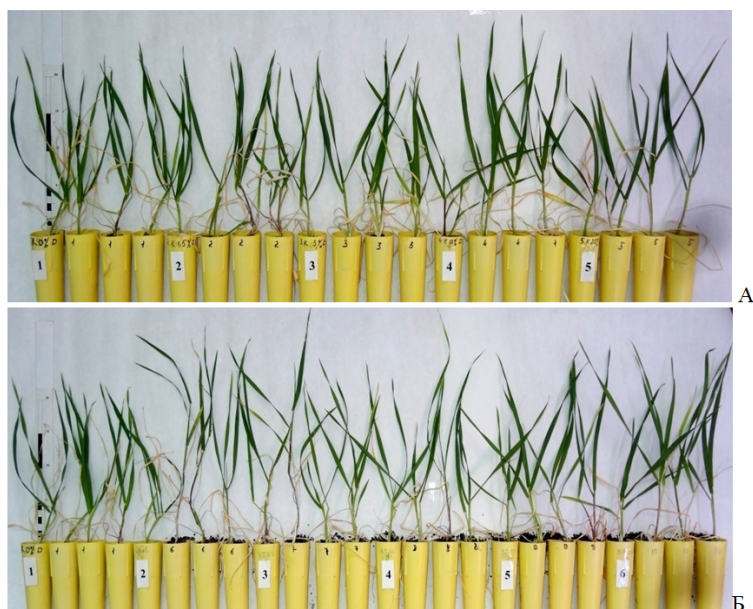


Рисунок 3 – Не микоризные (А) и микоризные (Б) растения ячменя, выращенные с внесением различных концентраций диатомита
1 – 0% диатомита; 2 – 1,5% диатомита; 3 – 3% диатомита; 4 – 10% диатомита; 5 – 20% диатомита

В ходе проведения обработки полученных данных выявлена корреляция между степенью микотрофности и сухой массой надземной части растений в условиях внесения различных концентраций диатомита (рис. 2, 4). Сопоставление показателей сухой массы надземной части растений не выявило большой разницы между микоризными и не микоризными растениями в вариантах опыта с различными концентрациями диатомита. При этом, данный показатель у микоризных растений был несколько выше, чем у не микоризных при концентрациях диатомита 0; 1,5; 3 и 20 %. В то же время во всех вариантах опыта внесение диатомита способствовало повышению сухой массы надземной части растений. При этом, рост данного показателя повышался при увеличении концентрации диатомита с 1,5 до 10% и снижался при внесении 20% данного кремний содержащего агрохимического сырья (рис. 4).

Из приведенных данных следует, что наибольший эффект для повышения ростовых показателей не микотрофных растений от внесения диатомита в почву наблюдается при его внесении в концентрации до 10 %. Однако совместное внесение диатомита (в концентрации 10 %) и инокулюма арбускулярного микоризного гриба делает неэффективным внесение

инокулюма: микоризные и немикоризные растения практически не отличались по высоте и мало отличались по показателю сухой надземной массы.

Недавние исследования показали, что растения, аккумулирующие больше кремния были по размеру примерно на 15% меньше по сравнению с растениями, меньше аккумулирующих этого элемента [9]. В то же время, аккумуляция кремния в тканях растений повышает их устойчивость к абиотическим и биотическим факторам окружающей среды [10].

Судя по всему, высокие концентрации диатомита (в частности 10%) не снижают степени микосимбиотрофизма, но могут способствовать снижению стимулирующего эффекта, оказываемого эндомикоризой на рост и урожайность растения-хозяина: в данном случае высоты и сухой массы надземной части *H. vulgare*.

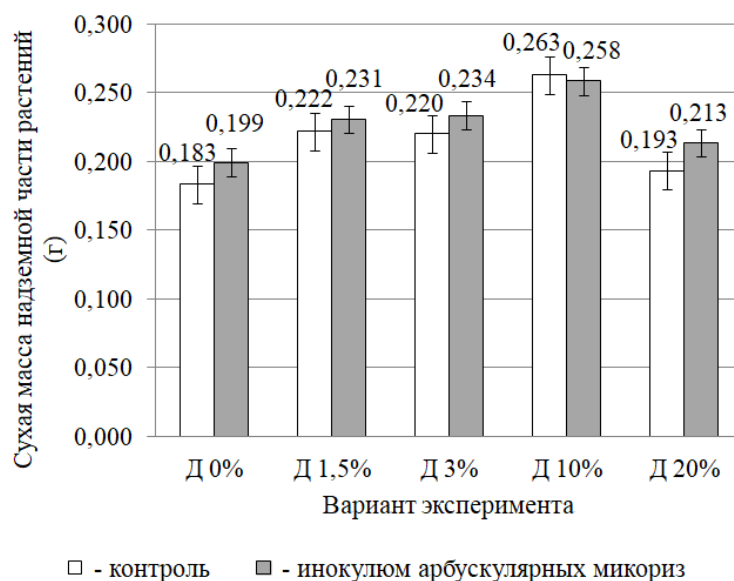


Рисунок 4 – Влияние различных концентраций диатомита на сухую массу надземной части микоризных и не микоризных растений ячменя

Закключение. Таким образом, в лабораторных условиях 10% диатомита в почвогрунте была оптимальной концентрацией для стимулирования процесса микоризообразования в корнях микотрофных растений.

Полученные в ходе проведения исследования данные могут быть использованы в ходе разработки биотехнологий, направленных на повышение почвенного плодородия почв и урожайности сельскохозяйственных культур.

Список литературы

- 1 Sharma A.K., Johri B.N. Arbuscular Mycorrhizae Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils. - Plymouth: Science Publishers UK, 2002. – 363р.
- 2 Soares Ana Cristina Fermino, da Silva Sousa Carla, da Silva Garrido Marlon et al. Fungomicorrizicosarbusculares no crescimento e nutricao de mudas de jenipapeiro // Rev. scienc. agron. - 2012. – Vol. 43. № 1. - P. 47-54.
- 3 Камский А.В. Эффективность кремнийсодержащего агрохимического сырья – диатомита при возделывании зерновых культур на дерново-подзолистых почвах: дисс. ...к.с./х.н. Немчиновка, 2007. - 120 с.
- 4 Sikes B.A., Cottenie K., Klironomos J.N. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas // J. Ecol.-2009. -V. 97. -P. 1274–1280.
- 5 Liu Y., Shi G., Mao L. et al. Direct and indirect influences of 8yr of nitrogen and phosphorus fertilization on *Glomeromycota* in an alpine meadow ecosystem // New Phytol. - 2012. – Vol. 194. № 2. - P. 523-535.
- 6 Cozzolino Vincenza, Di Meo Vincenzo, Piccolo Alessandro. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi applications on maize production and soil phosphorus availability// J. Geochem. Explor. - 2013. - № 129. - P. 40-44.
- 7 Lin X., Feng Y., Zhang H. et al. Long-term balanced fertilization decreases arbuscular mycorrhizal fungal diversity in an arable soil in north China revealed by 454 pyrosequencing// Environ. Sci. and Technol. - 2012. – Vol. 46. №11. - P. 5764-5771.

- 8 Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. - М.: Наука, 1981. – 232с.
- 9 Simpson K.J., Wade R.N., Rees M., Osborne C.P., Hartley S.E. Still armed after domestication? Impacts of domestication and agronomic selection on silicon defences in cereals//Functional Ecology.-2017.-№34.-P.1658-1667.
- 10 Rosemary Erin Haskell. Plant foliar phosphorus and silicon content changes in response to root fungal communities and silicon enrichment: Ph Dissertation. University of York, 2017. -152 p.

К.К. Богуспаев¹, Д.Г.Фалеев¹, Ж.Ж. Мырзагалиев¹, С.К. Наекова², Қ.М.Әубәкірова², М.Т. Мырзабаева³, З. Инсепов⁴, З.Әліқұлов², Ж.Ш. Ургалиев², Ш.Е. Арыстанова²

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

² Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

³ С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Астана, Қазақстан

⁴ Назарбаев университеті, Астана, Қазақстан

Диатомиттің әртүрлі концентрацияларының арпаның (*Hordeum vulgare* L.) микотрофтылығының деңгейіне әсері

Аннотация: Топыраққа диатомиттің әртүрлі концентрациялары (1,5-нан 3% дейін) берілгенде арпаның «Бәйшешек» сорты тамырындағы арбускулярлы микоризалы саңырауқұлақтардың мөлшері жоғарылады. Ең жоғарғы микотрофтылық диатомит 10% концентрациясы берілгенде анықталды. Ал, диатомиттің концентрациясының одан ары жоғарылауы арпаның микотрофтылық деңгейінің біршама төмендейтінін көрсетті. Диатомиттің өзі және оның инокуломмен қоспасы арпа өркендерінің биіктігіне әсер еткен жоқ. Сонымен қатар, диатомиттің 1,5-нан 10% дейін әртүрлі концентрациялары берілген кезде өсімдіктің микотрофтылық деңгейі мен оның жерүсті бөлігінің құрғақ массасы арасындағы корреляция анықталды. Зерттеу барысында алынған деректер топырақтың құнарлылығын және ауылшаруашылығы дақылдарының өнімділігін арттыруға бағытталған биотехнологияларды әзірлеу барысында пайдаланылуы мүмкін болатынын көрсетті.

Түйін сөздер: арпа, диатомит, арбускулярлы эндомикоризалық саңырауқұлақтар, инокулом, микотрофты өсімдіктер

¹ Boguspaev K.K., ¹ Faleev D.G., ¹ Myrzagaliev Zh.Zh., ² Nayekova S.K., ² Aubakirova K.M., ³ Myrzabaeva M.T., ⁴ Insepov Z.A., ² Alikulov Z., ² Urgaliyev Zh. Sh., ² Arystanova Sh. E.

¹ Al-Farabi Kazakh National University, Astana, Kazakhstan

² L.N.Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

³ S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Astana, Kazakhstan

⁴ Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan

Effect of different concentrations of diatomite on microtropic level of barley (*Hordeum vulgare* L.)

Abstract: Application of diatomite to the soil in concentrations (from 1.5 to 3%) resulted in the increase of arbuscular mycorrhiza fungi in root core of barley cultivar "Baysheshek". The highest microtropic was observed under 10% diatomite concentration. Further increase of diatomite concentration resulted in slight decrease of barley microtropic level. At the same time under different concentrations of diatomite from 1.5 to 10% the correlation between microtropic levels and dry mass of aboveground parts of the plant is observed. The data obtained in the course of the study can be used in the development of biotechnologies aimed at improving soil fertility and crop yields.

Keywords: barley, diatomite, arbuscular endomycorrhizal fungi, inoculum, mycotrophic plants

References

- 1 Sharma A.K., Johri B.N. Arbuscular Mycorrhizae Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils (Science Publishers UK, Plymouth, 2002).
- 2 Soares Ana Cristina Fermino, da Silva Sousa Carla, da Silva Garrido Marlon et al. Fungos micorrizicos arbusculares no crescimento e nutricao de mudas de jenipapeiro, Rev. scienc. Agron, 43(1), 47-54 (2012).
- 3 Kamskiy A.V. Effektivnost kremniysoderzhashchego syria – diatomite pri vzdelyvanii zernovykh kultur na derno-podzolistykh pochvakh. PhD diss. [Efficiency of silicon-containing raw materials-diatomite in the cultivation of grain crops on sod-podzolic soils. PhD thesis]. Nemchinovka, 2007. 120 p.[in Russian].
- 4 Sikes B.A., Cottenie K., Klironomos J.N. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas, J. Ecol. 97, 1274–1280 (2009).
- 5 Liu Y., Shi G., Mao L. et al. Direct and indirect influences of Syr of nitrogen and phosphorus fertilization on *Glomeromycota* in an alpine meadow ecosystem, New Phytol., 194(2), 523-535 (2012).
- 6 Cozzolino Vincenzo, Di Meo Vincenzo, Piccolo Alessandro. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi applications on maize production and soil phosphorus availability, J. Geochem. Explor., 129, 40-44 (2013).
- 7 Lin X., Feng Y., Zhang H. et al. Long-term balanced fertilization decreases arbuscular mycorrhizal fungal diversity in an arable soil in north China revealed by 454 pyrosequencing, Environ. Sci. and Technol., 46 (11), 5764-5771 (2012).
- 8 Selivanov I.A. Mikosimbiotrofizm kak forma konsortivnyh svyazey v rastitel'nom pokrove Sovetskogo Soyuza [Ecosymbiosis as a form consorting relationships in vegetation of the Soviet Union] (Nauka, Moscow. 1981). [in Russian].

- 9 Simpson K.J., Wade R.N., Rees M., Osborne C.P., Hartley S.E. Still armed after domestication? Impacts of domestication and agronomic selection on silicon defences in cereals, *Functional Ecology*, 34, 1658-1667 (2017).
- 10 Rosemary Erin Haskell. 2017. Plant foliar phosphorus and silicon content changes in response to root fungal communities and silicon enrichment. Ph Dissertation. University of York, 2017. 152 p.

Сведения об авторах

Boguspaev K.K.- Doctor of Biology Sciences, Professor of the Department Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan.

Myrzabaeva M.T. –PhD, Senior teacher of the Department plant protection and quarantine, S.Seifullin Kazakh AgroTechnical university, Pobeda ave 60, Astana, Kazakhstan.

Faleev D.G. – Senior teacher of Department Biodiversity and Bioresources, Al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan.

Naekova S. K.- doctoral Student of specialty 6D060700 – Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Aubakirova K. M., - Candidate of Biology Sciences, Assistant Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Alikulov Z. A. - Candidate of Biology Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Urgaliyev Zh. Sh. - Candidate of Biology Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Arystanova Sh. E., - Candidate of Biology Sciences, Assistant Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Богуспаев К.К. – д.б.н., профессор кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, пр. аль-Фараби, 71, Алматы, Казахстан.

Фалеев Д.Г.– старший преподаватель кафедры биоразнообразия и биоресурсов Казахского национального университета имени аль-Фараби, пр. аль-Фараби, 71, Алматы, Казахстан.

Мырзабаева М.Т. - PhD, старший преподаватель кафедры «Защита и карантин растений» , Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, проспект Победы, 60, Астана, Казахстан.

Наекова С.К. –докторант специальности 6D060700 – Биология, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева,2, Астана, Казахстан.

Аубакирова К.М. –кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева,2, Астана, Казахстан.

Аликулов З.А. - кандидат биологических наук, и.о. профессора кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева,2, Астана, Казахстан.

Ургалиев Ж.Ш. - кандидат биологических наук, и.о. профессора кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева,2, Астана, Казахстан.

Арыстанова Ш.Е. –кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева,2, Астана, Казахстан.

Received 18.12.2018

С.К. Наекова¹, М. Сатканов¹, А.У. Исаева², К.М. Аубакирова¹, М.Т. Мырзабаева³, З.А. Аликулов¹, Ургалиев Ж.Ш.¹, Арыстанова Ш.Е.¹

¹ Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

² Южно-Казахстанский государственный университет имени М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

³ Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, Астана, Казахстан
(E-mail: n-saltan@mail.ru, 19mereke99@mail.ru, akysaeva@mail.ru, aubakirova_km@enu.kz, malikamyrgmail.com, zer-kaz@mail.ru)

Сравнительная характеристика различных образцов Мугалжарского диатомита

Аннотация: В данной работе дана характеристика разных образцов диатомита, добытых из Мугалжарского месторождения Актюбинской области. Для определения химического состава диатомита и содержания основных элементов в процентных соотношениях была использована растровая электронная микроскопия. Полученные данные показывают, что все образцы диатомита содержат одни и те же химические элементы, но в различных количествах. Основным химическим элементом был Si (кремний) и его содержание достигало 30 - 40%. Высокое содержание подвижной формы кремния найдено в диатомите образца С и его содержание коррелировалось с концентрацией моносалициловой кислоты. Для изучения прорастания зерен и развития проростков концентрации водной суспензии диатомита для предпосевного прайминга семян ячменя были оптимизированы. Полученные атомно-эмиссионным спектральным методом результаты показали, что после прайминга в суспензии диатомита образца С всхожесть семян достигла 100% и устойчивость проростков к засолению и засухе повышалась.

Ключевые слова: химический состав диатомита, атомно-эмиссионный спектральный метод, прайминг семян, подвижные формы кремния, кислоторастворимый кремний, моносалициловая кислота

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-33-40>

Введение.¹ Дегградация почвы, загрязнение окружающей среды, снижение качества сельскохозяйственных продуктов требуют использования новых природных, экологически безопасных и вместе с тем высокоэффективных удобрений для сельского хозяйства. Основным последствием дегградации грунта является то, что сельскохозяйственные угодья становятся непригодными для выращивания культур. Снижение гумусового горизонта почвы на 1 см может привести к падению урожайности зерновых на 1 ц/га, при этом полностью компенсировать потери гумуса трудно из-за недостаточного использования органических удобрений [1].

Кроме того, сельскохозяйственные растения в Казахстане подвержены таким абиотическим стрессам как засоленность почвы и засуха. Для нашей страны проблема засоления почвы и засуха весьма актуальна, так как 62,2 процента территории заняты природными полупустынями и пустынями. В настоящее время из 182 млн. га пастбищных земель Казахстана 14 млн. га полностью выведены из оборота, а общая площадь дегградации превысила 50 млн. га. Из 90 миллионов гектаров сельхозугодий около трети подвержены процессам дефляции и эрозии, включая территории степей и лесостепей.

Засухи — это длительный период без дождей, сопровождаемый снижением относительной влажности воздуха, влажности почвы и повышением температуры, когда не обеспечиваются нормальные потребности растений в воде. В связи с тем, что именно в сухих и засушливых районах производится основная часть сельскохозяйственной продукции Казахстана, опустынивание этих регионов ставит под угрозу продовольственную безопасность государства

¹Работа выполнена в рамках проекта грантового финансирования МОН РК АР 05130166 «Изучение биохимических механизмов улучшения солеустойчивости и засухоустойчивости растений предпосевным праймингом семян в присутствии казахстанского диатомита»

[2]. Тем не менее, засушливые земли активно используются в сельскохозяйственном производстве.

В сельскохозяйственном производстве основным методом борьбы с засолением является мелиорация засоленных почв, создание надежного дренажа и промывка почв после сбора урожая. Повышение устойчивости растений к засолению и засухе с использованием природного удобрения представляет большой интерес. На сегодняшний день все чаще говорят о применении в сельском хозяйстве новых, нетрадиционных методов повышения урожайности культурных растений. И в первую очередь речь идет о диатомитах – осадочной горной породе, которую еще называют кизельгур, горная мука.

Диатомит – белая, светло-серая, очень легкая порода, состоящая из слабоцементированных частиц. Диатомит относится к группе кремнеземистых пород органогенного происхождения, образовавшихся из скорлупок диатомей и спикул кремниевых губок. Диатомиты, являясь образованиями морского и озерного генезиса, палеоген-неогенного или четвертичного возраста, более чем на 50% состоят из кремнистых скелетов микроскопических водорослей – диатомей. Для диатомовых характерно наличие особого состоящего из кремнезема покрова – «панциря». У морских планктонных диатомей вещество панциря содержит 95,6 % SiO_2 и 1,5 % Al_2O_3 или Fe_2O_3 . Пористость диатомита достигает 75%, удельная поверхность - до 50-100 м² на грамм осадка, содержание раковин до 600 млн. В куб. см, объемный вес 1-0,25 г/см³. Поэтому, диатомит, помимо того, что он является отличным сорбентом, он обладает и свойством поддержания влажности.

В настоящее время известно большое количество работ по изучению свойств диатомита и разработке технологий его использования в различных отраслях агропромышленного комплекса, в частности в растениеводстве и животноводстве [3]. Лидером по использованию диатомита, главным образом при культивировании пшеницы и других злаков, является Австралия [*mtsylviaadiatomite.com.au*]. В Австралии и Иране уже проводятся финансируемые государством научные исследования в направлении установления механизмов воздействия диатомита на высшие растения [4]. Некоторыми учеными, к примеру А.В. Камским (2007), проведены научно-исследовательские работы по изучению свойств диатомита как минерального удобрения при культивировании злаков, сахарной свеклы и др. сельскохозяйственных культур [5].

Минералы кремния рассматривают как источник растворимого кремнезема, который играет важную роль в формировании плодородия почв, повышении продуктивности растений и их устойчивости к болезням и вредителям. Указано, что при внесении в почвы диатомитов увеличивает ее буферность и адсорбционные свойства, а также способствует снижению железной и алюминиевой интоксикации растений, что особенно актуально для кислых почв.

В Мугалжарском районе Актюбинской области имеется большой запас диатомита - около 3 млрд тонн. Эти запасы представляют собой одну массивную гору. Наши предварительные исследования показали, что образцы различных частей этой горы различаются по составу. Поэтому, целью данной работы является сравнительное изучение состава различных образцов казахстанского диатомита и их эффекты на засухоустойчивость и солеустойчивость проростков растений после предпосевного прайминга их семян.

Методы исследования. Для оптимизации различных концентраций диатомитового раствора для прайминга семян необходимо было исследовать химический состав трех образцов (А, Б и С) мугалжарских диатомитов и выявить отличия между ними, а также влияние на рост и развитие растений.

Был проведен отбор проб 3-х различных видов диатомита, отличающихся по цвету, физической и химической структуре. Отобранные пробы были проанализированы с помощью современных инструментальных методик: химический состав диатомита был определен с помощью электронно-растрового микроскопа JSM 649LV (JEOL, Япония) с системой энергодисперсионного микроанализа INCA Energy 350 (OXFORD Instruments, Великобритания) а также с помощью атомно-эмиссионного спектрального анализа при содействии с ТОО «Азимут Геология».

Содержание водорастворимого кремния определяли посредством модифицированной методики Бочарникова и других [5,6]. Для этого получили вытяжку из 6 г материала в 30 мл бидистиллированной воде, после экстракции в течение 24 ч или 4 суток. Определяли кислоторастворимый кремний в вытяжке из 2 г материала в 20 мл 0.1 н. HCl после экстракции в течение 24 ч. Для исследования поверхностной структуры использовали сканирующий электронный микроскоп JSM-6390 A (JEOL, Япония)

Перед выращиванием растений проводили прайминг семян в диатомитовой суспензии в различных концентрациях (2г, 5г, 10г, 15г) в 100мл дистиллированной воде [5,6]. В надземной биомассе ячменя, используя щелочно-перекисное разложение органического вещества [7], измеряли общее содержание кремния [8]. Статистическую обработку групп данных проводили в приложении Excel. Значимость различий оценивали по p-value ($p \leq 0.05$).

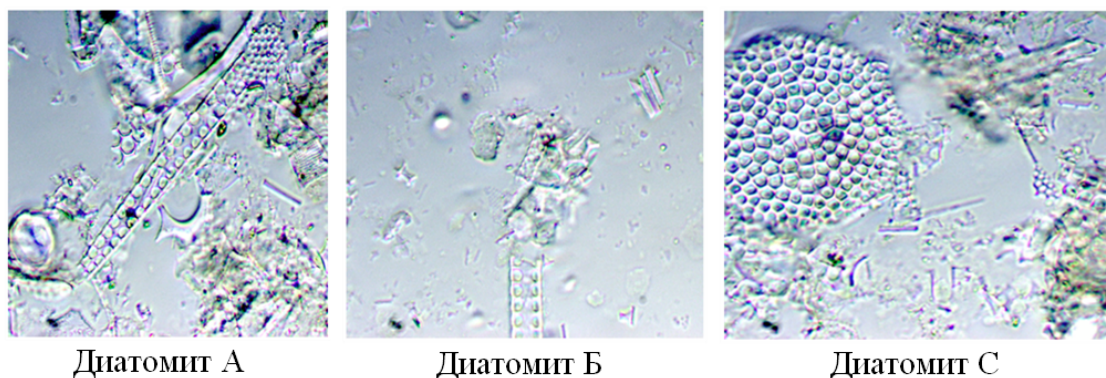


Рисунок 1 – Микроскопическая структура диатомита из Мугалжарского источника

Результаты. Микроскопическое изучение диатомита показывает что, диатомиты обладают уникальной ультраструктурой, представленной отмершими скелетами диатомовых водорослей (рис. 1).

Макроскопически изученные диатомиты А белого цвета, диатомит Б светло-серого цвета и диатомит С с желтоватым оттенком, все слабосцементированные. Все диатомиты состоят из многочисленных фрагментов и целых створок диатомовых водорослей. Присутствуют обломки кварца, хлоритовых и гидрослюдистых минералов. Структура породы биоморфная, тонкозернистая, пелитоморфная, текстура — микрослоистая, микролинзовидная. В породе встречаются редкие спиккулы кремниевых губок. Следует отметить, что видовой состав диатомовых водорослей довольно богат и разнообразен. Очень часто встречаются диатомовые водоросли рода *Thallossiosira*, *Coscinodiscus*, с дисковидными формами, кольцевидные *Lauderia annulata*, полукольцевидные *Rhizosolenia eriensis*, *Diatoma vulgare*, продолговатой формы *Pinnularia*, палочковидные *Denticula valida*, звездоподобные *Actinasteroides*, *Navicula spicula* [8]. В меньшей степени в породе представлены *Trinacria* и аналогичные им диатомовые общей треугольной формы *Pseudotriceratium*. Размеры варьируются от 10 до 60 мкм. Хорошо видимые даже при увеличении 10 крат и 40 (но лучше всего просматриваются при 100).

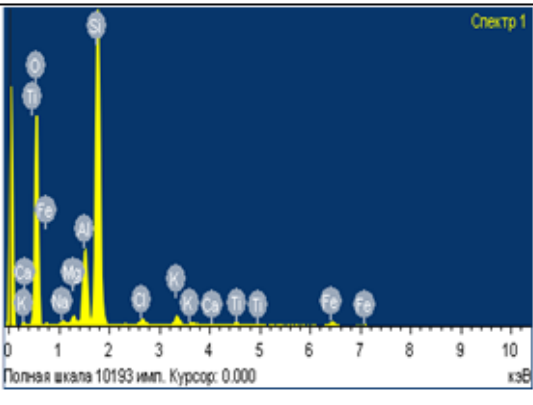
Поры мелкие, внутрискелетные, размером 0.04–0.6мм. Кроме того, пористость формируется за счет межзернового пространства [9,10]. Порода сложена на 95 % диатомовыми водорослями с хорошей степенью сохранности. В основном это мелкие размером от < 0,005 до 0,037 - 0,059 мм обломки и целые прозрачные створки.

Определение химического состава диатомита. Предварительный анализ элементного состава усредненных отходов показал наличие в них следующих элементов Na, Mg, Al, Si, Cl, K, Ca, Ti, Fe. Во всех видах диатомита основным компонентом химического состава пород является диоксид кремния (SiO_2) – среднее содержание достигает 70%-80% :Si-31%-35% и O-55-60%, в небольшом количестве – оксиды алюминия и железа (III) (Al-7,06%-8% Fe-1,53-1,74%). Нужно подчеркнуть и присутствие таких элементов как Na, Cl, Mg. Это объясняется тем, что диатомиты водоросли морского происхождения.

В рисунке 2 приведены результаты растрового электронного микроскопирования трех различных мугалжарских образцов диатомита. Было установлено, что химический состав диатомитов особо не отличается друг от друга.

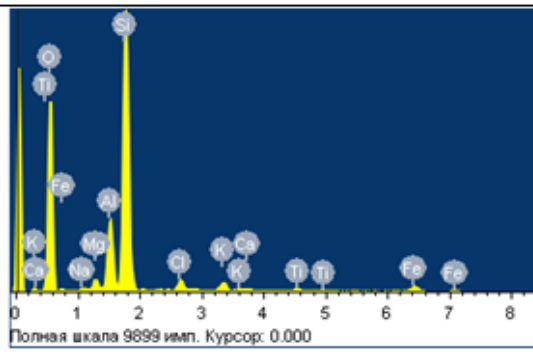
Диатомит А

Элемент	Весовой%	Атомный%
O	55.88	69.51
Na	0.48	0.42
Mg	0.82	0.67
Al	7.06	5.21
Si	31.36	22.22
Cl	0.79	0.44
K	1.31	0.67
Ca	0.13	0.06
Ti	0.43	0.18
Fe	1.74	0.62



Диатомит Б

Элемент	Весовой%	Атомный%
O	55.00	69.03
Na	0.39	0.33
Mg	1.31	1.00
Al	8.07	5.26
Si	33.06	21.49
Cl	1.76	0.85
K	1.04	0.69
Ca	1.34	0.17
Ti	0.40	0.18
Fe	1.53	0.91



Диатомит С

Элемент	Весовой %	Атомный%
O	52.88	64.51
Na	0.48	0.42
Mg	0.82	0.67
Al	7.06	5.21
Si	35.36	22.22
Cl	0.79	0.44
K	1.31	0.67
Ca	0.13	0.06
Ti	0.43	0.18
Fe	1.74	0.62

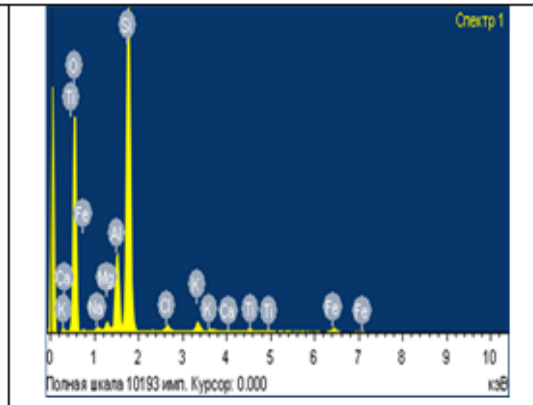


Рисунок 2 – Результаты растрового электронного микроскопирования

Атомно-эмиссионный спектральный метод определения показал, что диатомит образца А в значительном количестве состоит из следующих элементов как: Ва-0,139%, Fe-1,33%, Р-0,06%, Si-34,26%, Ti-0,23%. Диатомит Б: Ва-0,241%, Fe-1,56%, Ni-0,01%, Р-0,193%, Si-33,65%, Ti-0,248, диатомит С Ва-0,103%, Fe-1.95%, Р-0,037%, Si-36,95%, Ti-0,2%. Среди указанных элементов

кремний, железо и фосфор играют большую роль в сбалансированном питании растений, улучшая засухоустойчивость и солеустойчивость проростков семян.

Определение подвижных форм кремния в диатомитах. Для определения монокремниевой кислоты в почве и диатомите применяли метод Маллена и Райли (1979). Модификация заключалась в замене нестабильного нафтола сульфатом железа и изменением времени воздействия монокремниевой кислоты с молибденовокислым аммонием (Матыченков, 2007) [7].

В начале опыта были определены количества монокремниевой кислоты в различных концентрациях диатомитовой суспензии (2г, 5г, 10г, 15г). Все виды диатомита были суспендированы в 100 мл дистиллированной воде). Диатомитовые суспензии показывали разные значения pH: образец диатомита А: pH=6, диатомит Б: pH=3,8, диатомит С: pH=7. Было установлено что, с увеличением массы диатомита наблюдается повышение концентрации монокремниевой кислоты (рис 3.).

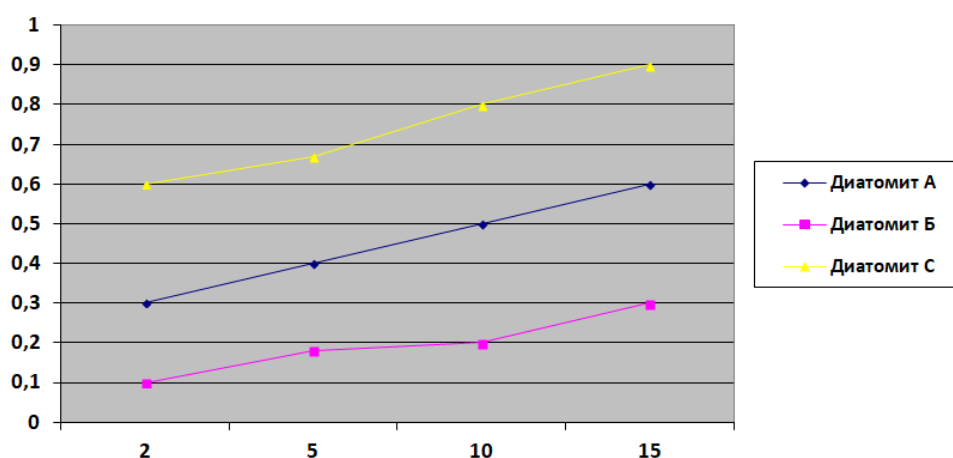


Рисунок 3 – Зависимость концентрации монокремниевой кислоты от массы диатомита разбавленной в 100 мл дистиллированной воды

Для описания эффективности потенциальных кремниевых удобрений по критерию содержания активного кремния в этих соединениях авторами предложено использовать модифицированное выражение:

$$ActSi = 10Ч(AclSi1cyт + AclSi4cyт) + PtnSi, \quad (1)$$

где ActSi – активный кремний, AclSi – актуальный кремний, PtnSi потенциальный кремний. Для выяснения зависимости между содержанием активного кремния и кремниевым состоянием системы почва–растение.

Виды диатомита	Водорастворимый кремний		Кислоторастворимый кремний
	1-сутки	4-сутки	
Диатомит А	30,24	32,04	896
Диатомит Б	25,44	26,44	394
Диатомит С	40,86	41,02	1073
Природная почва	15	15,5	584

Таблица 1 - Сравнительная характеристика трех диатомитов и природной почвы, мг/кг

Высокое содержание данной формы кремния отмечено для диатомита С. Диатомиты А и Б обладали сходными в отношении кремния свойствами. Диатомит Мугалжарского месторождения имеет морское происхождение. Максимальным было содержание

кислоторастворимых форм кремния в диатомитах С 1073мг/кг (табл.1., а содержание монокремниевой кислоты соответствует 20 г диатомит, суспендированной в 100мл Н₂О).

После 2-недельного выращивания ячменя было определено общее содержание монокремниевой кислоты в составе растения. В результате исследования наблюдается эффективное воздействие диатомита С на рост и развитие растений. Также содержание монокремниевой кислоты в тканях выше по сравнению с другими видами диатомита. Опыт проведен в трех повторностях.

Вид и масса диатомита	Сухая биомасса ячменя	Кремний
Диатомит 1		
2г	1,20	0,15
5г	1,30	0,15
10г	1,5	0,16
15г	1,4	0,16
Диатомит 2		
2г	1,2	0,14
5г	1,1	0,14
10г	1,2	0,15
15г	1,3	0,18
Диатомит 3		
2г	1,4	0,16
5г	1,3	0,20
10г	1,3	0,27
15г	1,2	0,28

Таблица 2 - Влияние диатомита на биомассу ячменя и содержание в ней кремния

Заключение. Результаты проведенного исследования показали, что прайминг семян с диатомитовой суспензией можно использовать в аграрном промышленном комплексе. В дальнейших исследованиях будет определена локализация диатомита образца С в Мугалжарском источнике, который будет использован в различных концентрациях для улучшения устойчивости нескольких видов злаковых растений к засолению и засухе.

Список литературы

- 1 Arora A., Sairam R. K., Srivastava G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants// Current Science. -2002.- V.82.- №10.-P. 1227-1245.
- 2 Елишев Е., Иванов А.Л., Садвакасов С.К. Изучение влияния совместного внесения фосфорных и кремнийсодержащих удобрений на фосфатный режим основных типов почв Казахстана//Агрохимия.- 1990.- №10.-С.35-42.
- 3 Куликова А.Х., Яшин Е.А., Данилова Е.В., Юдина И.А., Доронина О.С., Никифорова С.А. Влияние диатомита и минеральных удобрений на урожайность и качество корнеплодов сахарной свеклы//Агрохимия.- 2007.- №6.-С. 27-31.
- 4 Khan H. A., Ayub C. M., Pervez M. A., Bilal R. M., Shahid M. A., Ziaf K. Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annum L.*) at seedling stage// SoilEnviron. -2009-V. 28.-P. 81-87.
- 5 Камский А.В. Эффективность кремнийсодержащего сырья - диатомита при возделывании зерновых культур на дерново-подзолистых почвах: автореф. дис. ... к.с./х.н. Немчиновка, 2007. -21 с.
- 6 Бочарникова Е.А., Матыченков В.В., Погорелов А.Г. Сравнительная характеристика некоторых кремниевых удобрений // Агрохимия. 2011. № 11. С.25–30.
- 7 Матыченков В.В., Аммосова Я. М., Бочарникова Е.А. Метод определения доступного для растений кремния в почвах // Агрохимия. -1997.- № 1. -С. 76-84.
- 8 Матыченков В.В. Градация почв по дефициту доступного растениям кремния // Агрохимия. -2007. -№ 7. -С. 22–31.
- 9 Elliot C.L., Snyder G.S .Autoclave-i nduceddigestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw // J. Agric. Food Chem. -1991. -V. 39. -P. 1118–1119.
- 10 Файзиева К. А. Микроскопические исследования диатомитов разреза «белая горка» (Свердловская область)//Вестник ИГ Коми НЦ УрО РАН.-2017.-№ 7.-С.38-41.

С.К. Наекова¹, М. Сатқанов¹, А.У. Исаева², Қ.М. Әубәкірова¹, М.Т. Мырзабаева³, З.А. Әліқұлов¹,
Ж.Ш. Ургалиев¹, Ш.Е. Арыстанова¹

¹ Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

² М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті, Шымкент, Қазақстан

³ С.Сейфуллин атындағы қазақ агротехникалық университеті, Астана, Қазақстан

Мұғалжар диатомитінің әртүрлі үлгілеріне салыстырмалы сипаттама

Аннотация: Берілген жұмыста Ақтөбе облысындағы Мұғалжар кен орнынан алынған диатомиттің әртүрлі үлгілеріне сипаттама берілген. Диатомиттің химиялық құрамын және ондағы элементтердің пайыздық қатынастарын анықтау үшін сканерлі электрондық микроскопия қолданылды. Алынған мәліметтер диатомиттің барлық үлгілерінде элементтердің түрлерінің бірдей, бірақ олардың мөлшерінің әртүрлі болатынын көрсетті. Негізгі элемент Si (кремний) екені және оның мөлшері 30 - 40%-ке жететіні анықталды. Кремнийдің қозғалғыш түрі диатомиттің С үлгісінде анықталды және оның мөлшері моносалицил қышқылының мөлшеріне сәйкес болып шықты. Дәндердің өнуі мен өркендердің дамуын зерттеу үшін дәндерді себер алдында праймингпен өңдеуге қажет диатомиттің судағы суспензиясының концентрациялары оңтайландырылды. Алынған нәтижелер диатомиттің С үлгісінің суспензиясында праймингтен кейін дәндердің өну пайызы 100-ге жетті және өркендердің тұздану мен құрғақшылыққа төзімділігі жоғарылады.

Түйін сөздер: диатомиттің химиялық құрамы, атомдық-эмиссиялық спектралдық әдіс, дәндер праймингі, кремнийдің қозғалмалы түрлері, қышқылда еритін кремний, моносалицил қышқылы

S. K.Naekova¹, M. Satkanov¹, A. U. Isaeva², K. M. Aubakirova¹, M.T. Myrzabaeva³, Z.A. Alikulov¹,
Zh.Sh. Urgaliyev¹, Sh.E. Arystanova¹

¹ L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

² M. Auezov South-Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan

³ S.Seifullin Kazakh AgroTechnical University, Astana, Kazakhstan

Comparative characteristics of different samples of Mugalzhar diatomite

Abstract: In present work a diatomite samples obtained from different sites of Mugalzhar deposit in Aktobe oblast were characterized. For determination of chemical composition of the diatomite and the content of basic elements in per cent ratios the scanning electron microscopy was used. The obtained data showed that all diatomite samples contain the same chemical elements but in different amounts. The main chemical element was Si (silicium) and its content was 30-40%. High content of mobile form of silicium was found in the sample C and its content correlated with the concentration monosilicic acid. For the study of seed germination and seedling development the concentrations of diatomite water suspension for barley seed priming were optimized. The obtained results showed that after pre-sown priming of barley seeds in suspension of diatomite sample C the percent of germination achieved 100% and seedlings tolerance to the salinity and drought was increased.

Keywords: chemical composition of diatomite, atomic emission spectral method, priming of seeds, mobile forms of silicium, acid-soluble silicium, monosilicic acid

References

- 1 Arora A., Sairam R. K., Srivastava G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Current Science*, **82**(10), 1227-1245 (2002).
- 2 Elishev E., Ivanov A.L., Sadvakasov S.K. Izucheniye vliyaniya sovместnogo vneseniya fosfornykh i kremniysoderzhashchikh udobreniy na fosfatnyy rezhim osnovnykh tipov pochv Kazakhstana [Study of the effect of joint application of phosphorus and silicon-containing fertilizers on the phosphate regime of the main types of soils in Kazakhstan], *Agrokimiya [Agrochemistry]*, **10**,35-42 (1990). [in Russian].
- 3 Kulikova A.Kh., Yashin E.A., Danilova E.V., Yudina I.A., Doronina O.S., Nikiforova S.A. Vliyaniye diatomita i mineralnykh udobreniy na urozhaynost i kachestvo korneplodov sakharnoy svekly [The impact of diatomite and mineral fertilizers on the yield and quality of sugar beet roots], *Agrokimiya [Agrochemistry]*, **6**, 27-31 (2007). [in Russian].
- 4 Khan H. A., Ayub C. M., Pervez M. A., Bilal R. M., Shahid M. A., Ziaf K. Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper (*Capsicum annum* L.) at seedling stage, *Soil Environ.*, **28**, 81-87, (2009).
- 5 Kamskiy A.V. Effektivnost kremniysoderzhashchego syria - diatomita pri vozdeyvaniy zernovykh kultur na dernovo-podzolistykh pochvakh. PhD diss. [Efficiency of silicon-containing raw materials-diatomite in the cultivation of grain crops on sod-podzolic soils. PhD thesis]. Nemchinovka, 2007. 21 p.
- 6 Bocharnikova E.A., Matychenkov V.V., Pogorelov A.G. Sravnitel'naya kharakteristika nekotorykh kremniyevykh udobreniy [Comparative characteristics of some silicon fertilizers], *Agrokimiya [Agrochemistry]*, **11**, 25-30 (2011). [in Russian].
- 7 Matychenkov V.V., Ammosova Ya. M., Bocharnikova E.A. Metod opredeleniya dostupnogo dlya rasteniy kremniya v pochvakh [Method for determination of silicon available for plants in soils], *Agrokimiya [Agrochemistry]*, **1**, 76-84 (1997). [in Russian].
- 8 Matychenkov V.V. Gradatsiya pochv po defitsitu dostupnogo rasteniyam kremniya [Gradation of soils by the shortage of available silicon to plants], *Agrokimiya [Agrochemistry]*, **7**, 22-31 (2007). [in Russian].
- 9 Elliot C.L., Snyder G.S. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1118-1119(1991).

- 10 Fayziyeva K. A. Mikroskopicheskiye issledovaniya diatomitov razreza «belaya gorka» (Sverdlovskaya oblast) [Microscopic studies of diatomites of the "white hill" section (Sverdlovsk region)], Vestnik IG Komi NTs UrO RAN [Bulletin of the Institute of Geology, Komi science center URD RAS], **7**, 38-41 (2017). [in Russian].

Сведения об авторах

Наекова С.К. – докторант специальности 6D060700 – Биология, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Сатканов М. – студент специальности 5B070100-Биотехнология, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Исаева А.У. – доктор биологических наук, профессор, Южно-Казахстанский государственный университет имени М. Ауезова, проспект Тауке хан, 5, Шымкент, Казахстан.

Аубакирова К.М. – кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Мырзабаева М.Т. – PhD, старший преподаватель кафедры «Защита и карантин растений», Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, проспект Победы, 60, Астана, Казахстан.

Аликулов З.А. – кандидат биологических наук, и.о. профессора кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Ургалиев Ж.Ш. – кандидат биологических наук, и.о. профессора кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Арыстанова Ш.Е. – кандидат биологических наук, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, ул. Сатпаева, 2, Астана, Казахстан.

Наекова С. К. – Doctoral Student of specialty 6D060700 – Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Satkanov M. – Student of specialty 5B070100 – Biotechnology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Isaeva A. U. – Dr Sci. of Biology, Professor, M. Auezov South-Kazakhstan State University, Tauke khan ave 5, Shymkent, Kazakhstan.

Aubakirova K. M., – Candidate of Biology Sciences, Assistant Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Myrzabaeva M. T. – PhD, S.Seifullin Kazakh AgroTechnical University, Pobeda ave 60, Astana, Kazakhstan.

Alikulov Z. A. – Candidate of Biology Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Urgaliyev Zh. Sh. – Candidate of Biology Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Arystanova Sh. E., – Candidate of Biology Sciences, Assistant Professor of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev str. 2, Astana, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 18.12.2018

М.С. Дуамбеков¹, Н.Б. Молдагулова², А.Ж. Аюпова³, Э.Ж. Хасенова⁴,
Д.Ж. Сембаева⁵

Учреждение «Международная академия экологии», Астана, Казахстан
(E-mail: ¹ mae_astana@mail.ru, ² m_nazira1967@mail.ru, ³ a.ibraeva@mail.ru,
⁴ elmira_alta@mail.ru, ⁵ sembaeva_1981@mail.ru)

Изучение фенотипических свойств активных штаммов микроорганизмов способных ферментировать органические отходы

Аннотация: В данной работе представлены результаты выделения и скрининга микроорганизмов, перспективных для переработки органических отходов на сельскохозяйственных предприятиях. Из органических отходов методом накопительной культуры выделено 32 изолята и проведен скрининг выделенных микроорганизмов по способности к росту на животноводческих и птицеводческих отходах, способности нейтрализовать неприятные запахи помета и навоза, а также по способности в процессе роста повышать температуру органических веществ. По результатам скрининга отобрано 15 культур микроорганизмов, способных к репродукции на органических отходах. Дальнейший отбор культур проводили по ферментативной активности. Изучали амилолитическую, протеолитическую, целлюлолитическую и липазную активность отобранных изолятов. Путем постановок ряда тестов были изучены фенотипические свойства (физиолого-биохимические и культурально-морфологические) активных штаммов микроорганизмов, способных ферментировать органические отходы.

Ключевые слова: микроорганизмы, органические отходы, животноводческие отходы, птичий помет, ферментация.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-41-48>

Введение. В Казахстане, как и во многих странах мира, активно развивается животноводческая отрасль. В свою очередь становление животноводства в стране привело к скоплению большого количества отходов рядом с птицефабриками и на территории животноводческих ферм, влияющих на экологическое состояние страны. Все это представляет постоянную угрозу экологическому благополучию населения страны. Кроме того, отходы жизнедеятельности сельскохозяйственного производства могут привести к опасному загрязнению водно-воздушного бассейна, почв, и привести к росту заболеваемости животных и населения.

Беря во внимание, что отходы жизнедеятельности животных и птиц в своем составе содержат большое количество токсичных веществ и то, что они загрязняют окружающую среду, возникает надобность утилизировать их экологически безопасным путем. Для утилизации животноводческих отходов в разных странах применяются всевозможные методы: компостирование, вирмикомпостирование, ферментация [1, 2].

Наиболее выгодным решением этой проблемы является внедрение ускоренной биологической ферментации органических отходов птицефабрик и животноводческих ферм. Для этой цели в мировой практике применяют различные биологические препараты, изготовленные из отобранных культур эффективных микроорганизмов, способствующих ускоренному ферментированию отходов животноводческих комплексов [3,4,5,6]. Использование таких препаратов ускоряет процесс переработки отходов и позволяет сократить время переработки в несколько раз. Это значительно снижает объем занимаемых площадей, необходимых для временного хранения навозных стоков. Отсутствие собственных отечественных разработок в данном направлении и накопившиеся многочисленные экологические проблемы диктуют необходимость выделения микроорганизмов, перспективных для переработки органических отходов и разработки на их основе отечественного биологического препарата.

Материалы и методы исследования. С целью выделения микроорганизмов, перспективных для ферментации органических отходов на предприятиях агропромышленного

комплекса отобраны пробы отходов сельскохозяйственных животных. Источниками выделения мезофильных и термофильных бактерий являлись птичий помет и навоз крупного рогатого скота. Выделение микроорганизмов проводили методом накопительных культур на таких универсальных питательных средах, как сухой питательный бульон, мясопептонный бульон, бульон МРС (Ман, Рогоза, Шарп) и жидкая среда Сабуро. Посевы для выделения мезофильных бактерий культивировали в термостате при 30-37 °С в течение 72 ч. Процесс выделения культур термофильных бактерий аналогичен процессу выделения мезофильных, при этом термофильные бактерии культивировали в термостате при 55 °С в течение 72 ч. Чистые культуры микроорганизмов пересевали на плотные питательные среды СПА, МПА, МРС, Сабуро методом истощающего штриха по Гоулду. Инкубацию культур производили при 37 °С и 55 °С в течение 48-72 часов. Чистоту выделенных культур микроорганизмов оценивали общепринятыми методами – микроскопическим контролем по Грамму и высевом на среду МПА.

Результаты исследований. По результатам выделения культур микроорганизмов из проб птичьего помета и навоза крупного рогатого скота выделено 32 изолята из которых мезофильных – 22 культуры, термофильных - 10 культур микроорганизмов. Первичный скрининг выделенных микроорганизмов проводили по способности к росту на животноводческих и птицеводческих отходах, способности нейтрализовать неприятные запахи помета и навоза, а также по способности в процессе роста повышать температуру органических веществ.

На рисунке 1 представлено первичное выделение микроорганизмов.

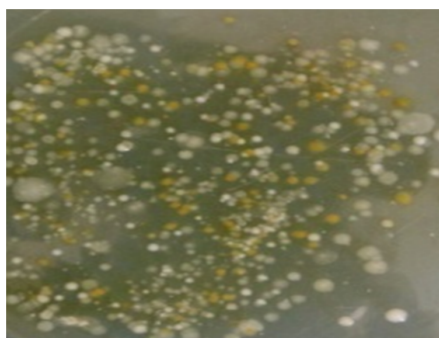


Рисунок 1 – Первичное выделение микроорганизмов

Серию опытов с куриным пометом и коровьим навозом проводили в небольших ямах. Органические отходы предварительно нагревали до 30 °С и увлажняли для быстрого старта вносимых бактерий. Далее вносили бактерии и тщательно перемешивали. Перемешанный помет и навоз влажностью 45-50% вносили в яму и ежедневно наблюдали за температурой, изменением цвета и запаха (рисунок 2).



Рисунок 2 – Ферментация органических отходов

В результате скрининга отобрано 15 культур микроорганизмов, способных к репродукции в органических отходах. Отобранные культуры при температуре внесения 30 °С в навоз и

птичий помет (далее органика) в дозе 6,0 lg КОЕ/ см³, стартуют быстрее, чем при внесении указанной дозы в органику ниже 25 °С.

Органолептические показатели органических отходов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Визуальный и органолептический анализ куриного помета и коровьего навоза, обработанный изолятами микроорганизмов

Изолят	начальная			через 5 суток			через 10 суток		
	запах	температура	цвет	запах	температура	цвет	запах	температура	цвет
контроль	Р.с.а.з	30°С	-	Р.с.а.з		-	Р.с.а.з	25°С	-
П1-1,КН2-8,СН3-28,СН3-4,СН3-16	Р.с.а.з	30°С	-	И.з	38°С	+	И.з	60°С	+
П1-2,КП-6,СН3-6	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з		-	О.р.а.з	29°С	+
КН2-17,КН2-16	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з		-	О.р.а.з	24°С	+
П1-15,П1-7,СН3-2	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з	35°С	+	И.з	50°С	+
СН3-26,П1-9, П1-10	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з		-	О.р.а.з	25°С	+
П1-11,КН2-6,КП-4	Р.с.а.з	30°С	-	Р.с.а.з		-	О.р.а.з	25°С	-
П1-12,СН3-1,КН2-11,П1-4	Р.с.а.з	30°С	-	Р.с.а.з		-	Р.с.а.з	25°С	-
П1-8,П1-13,КН2-9, КП-1	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з	38°С	+	И.з	55°С	+
П1-14,СН3-3	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з		-	О.р.а.з	35°С	+
КН2-1,КН2-7,СН3-27	Р.с.а.з	30°С	-	О.р.а.з		+	И.з	52°С	+
Примечания Р.с.а.з - Резкий, специфический аммиачный запах О.р.а.з.- Ослабление резкого специфического запаха И.з – исчезновение запаха «+» - наблюдается изменение цвета «-» - нет изменения цвета									

При культивировании культур при 30 °С на 3-4 сутки общий титр клеток на среде МРС достигает до 8,0 lg КОЕ/ см³. Также при этом наблюдается повышение температуры до 60 °С на 8-10 сутки.

Кроме того, отбор культур проводили по ферментативной активности. Изучение ферментативной активности выделенных изолятов проводили путем определения амилолитической, протеолитической, целлюлолитической и липазной активностей.

На рисунке 3 представлены протеолитическая, амилолитическая и липазная активность изолята.

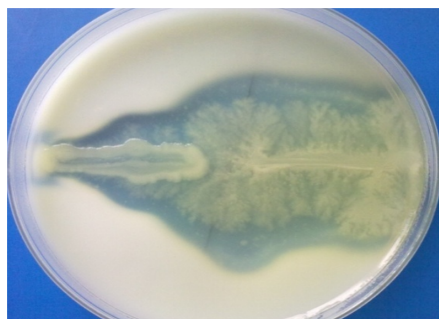


Рисунок 3 – Липолитическая активность изолята

Изучение липолитической активности изолятов показало наличие 5 культур, способных к деструкции жиров. Амилолитической активностью обладали 10 культур. Размеры зоны гидролиза колебались в пределах 0,7-1,9 мм. Восемь культур расщепляли казеин на молочном агаре. При культивировании микроорганизмов на жидкой среде Гетчинсона с добавлением

фильтровальной бумаги только 7 изолятов проявили способность разрушать целостность фильтровальной бумаги и образовывать хлопьевидное помутнение среды. Изучение ферментативной активности отобранных изолятов приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Ферментативная активность отобранных изолятов

Изоляты	Протеолити-ческая активность	Амилолити-ческая активность	Липолити-ческая активность	Целлюлолити-ческая активность
П1-1,	+	+	+	-
КН2-8	+	+	+	+
СН3-28	-	+	-	+
СН3-4	+	-	+	-
СН3-16	-	+	+	-
П1-15,	-	+	-	+
П1-7,	-	-	-	-
СН3-2	+	+	-	+
П1-8	-	-	-	-
П1-13	+	+	-	+
КН2-9	-	-	-	+
КП-1	+	+	+	-
КН2-1	+	+	-	+
КН2-7	+	-	-	-
СН3-27	-	+	-	-
Примечания «+» - положительная реакция, «-» - отрицательная реакция				

В результате изучения ферментативной активности 8 культур проявили протеолитическую активность, 10 культур обладали амилазной активностью, 5 культур - липазной и 7 культур - целлюлолитической активностью.

Путем постановок ряда тестов были изучены физиолого-биохимические и культурально-морфологические свойства культур микроорганизмов, проявивших наибольшую активность.

Дальнейшее изучение физиолого-биохимических свойств отобранных микроорганизмов показало, что 12 культур – уреазоположительные, 3 – оксидазоположительные, 7 культур гидролизуют крахмал, все 15 культур, кроме 3 - каталазоположительные, 8 – не разжижают желатин, 10 культур - не дезаминируют фенилаланин, 10 культур - гидролизуют казеин (таблица 3).

На рисунке 4 представлено отношение отобранных микроорганизмов к кислороду. По отношению к кислороду 6 культур относятся к факультативным анаэробам, 9 культур - к микроаэрофилам.

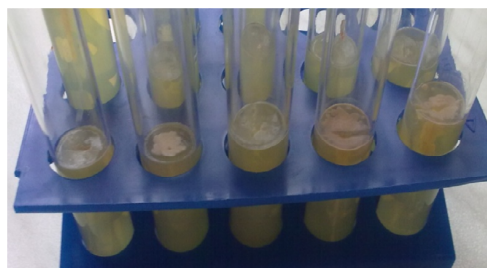


Рисунок 4 – Отношение к кислороду отобранных культур микроорганизмов

Далее определяли усвоение углеводов отобранными микроорганизмами. По отношению к углеводам 2 культуры из 15 культур микроорганизмов не усваивают сахарозу, лактозу, инозит, арабинозу, целлобинозу, салицин. Результаты усвоения углеводов отобранными изолятами отражены в таблице 4.

Таблица 3 – Физиолого-биохимические свойства отобранных изолятов

Изоляты	Наличие уреазы	Наличие оксидазы	Наличие каталазы	Гидролиз казеина	Гидролиз крахмала	Разжижение желатины	Дезаминир. фенилаланина	Отношение к O ₂
П1-5	+	-	+	+	+	-	+	ф.а
КН2-8	+	+	+	+	-	+	-	м
СН3-28	+	-	-	+	+	+	+	м
СН3-4	+	-	+	-	+	-	-	м
СН3-16	-	+	+	-	+	-	-	м
П1-15	+	-	-	+	-	-	-	м
П1-7	+	-	+	+	-	+	-	ф.а
СН3-2	+	-	-	+	+	-	-	м
П1-8	+	-	+	-	-	+	+	м
П1-13	+	-	+	+	+	+	-	м
КН2-9	-	-	+	+	-	-	+	ф.а
КП-1	+	-	+	-	+	+	-	ф.а
КН2-1	+	-	+	+	-	-	-	ф.а
КН2-7	+	-	+	+	-	+	+	ф.а
СН3-27	-	+	+	-	-	-	-	м

Примечания
 «+» - положительная реакция,
 «-» - отрицательная реакция
 «ф.а» - факультативный аэроб
 «м» - микроаэрофил

Таблица 4 – Усвоение углеводов отобранными изолятами

Изоляты	сахара-роза	лактоза	арабиноза	глюкоза	ксилоза	мальтоза	фруктоза	трегалоза	инозит	галактоза	целлобиноза	манноза	сорбитол	салицин
П1-1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
КН2-8	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
СН3-28	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
СН3-4	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
СН3-16	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
П1-15	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+
П1-7	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
СН3-2	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
П1-8	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+
П1-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
КН2-9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
КП-1	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
КН2-1	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
КН2-7	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
СН3-27	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Примечания
 «+» - положительная реакция,
 «-» - отрицательная реакция

3 культуры не усваивают сорбитол, ксилозу, фруктозу; 4 культуры не усваивают трегалозу, галактозу, маннозу; 5 культур не усваивают мальтозу; 9 культур не усваивают глюкозу. На рисунке 5 представлено использование углеводов отобранными изолятами.

Культурально-морфологические свойства отобранных микроорганизмов изучали с использованием жидких и твердых питательных сред. На плотной среде культуры образовывали колонии бежевого, розового и белого цветов различных размеров слизистой и пастообразной консистенции. Большинство бактерий образует круглые колонии однородной структуры, 4 культуры имеют амёбовидную форму колоний. На рисунке 6 представлены культуральные свойства отобранных микроорганизмов.

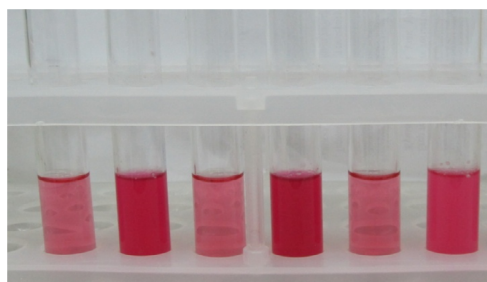


Рисунок 5 – Использование углеводов отобранными изолятами

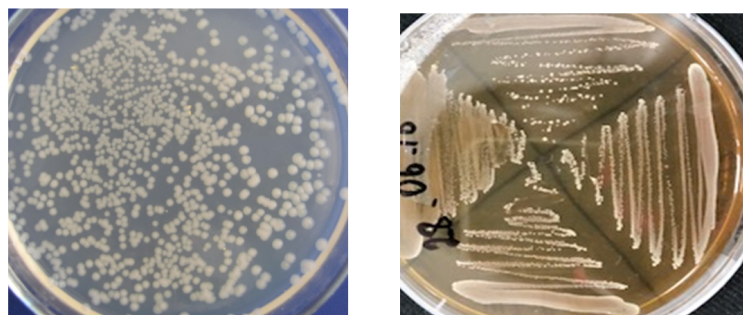


Рисунок 6 – Культуральные свойства отобранных микроорганизмов

По морфологическим свойствам в мазках при микроскопии бактериальных клеток показано, что 12 культур бактерий имеют палочковидную форму, остальные 4 – коккоподобные палочки. Исследуемые культуры, кроме 3 – грамположительные. На рисунке 7 представлена морфология клеток исследуемых микроорганизмов.

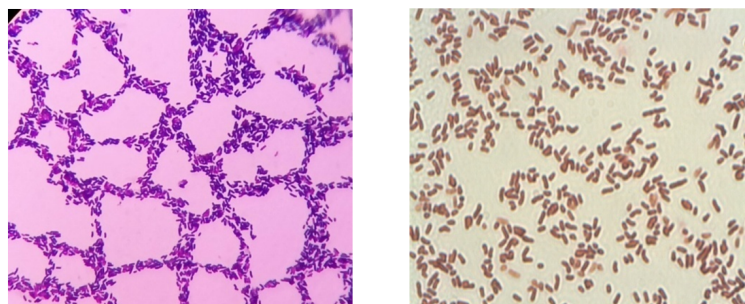


Рисунок 7 – Морфология клеток исследуемых микроорганизмов

Выводы. Таким образом, в результате выделения и скрининга микроорганизмов, перспективных для переработки органических отходов на предприятиях АПК, из сельскохозяйственных отходов методом накопительной культуры выделено 32 изолята. Скрининг выделенных микроорганизмов по способности к росту на животноводческих и птицеводческих отходах, способности нейтрализовать неприятные запахи помета и навоза, а также по способности в процессе роста повышать температуру органических веществ позволил отобрать 15 культур микроорганизмов, способных к репродукции на органических отходах. В дальнейшем изучали амилолитическую, протеолитическую, целлюлолитическую и липазную активность отобранных изолятов. Путем постановок ряда тестов были изучены фенотипические свойства отобранных культур.

Список литературы

- 1 Капустин, В.П. Обоснование способов и средств переработки бесподстильного навоза / В.П. Капустин. – Тамбов : Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2002. – 80 с.
- 2 Ковалев Н.Г. Новые технологии высококачественных удобрений и кормовых добавок. Тверь, 2000. – С. 1–25.

- 3 Шаблин, П.А. Применение ЭМ-технологии в сельском хозяйстве / П.А. Шаблин // Микробиологические препараты «Байкал ЭМ1», «Тамир», «ЭМ-Курунга» // Практическая биотехнология в сельском хозяйстве, экологии, здравоохранении : сб. тр. – М., 2006. – С. 23–36.
- 4 Биопрепарат для переработки навоза [Электрон.ресурс] – 1016. – BIOFORCE Farming. -URL: <http://elektroximnab.ru/biopreparaty-bioforce/bakterii-dlja-zhivotnovodstva-i-pticevodstva>
- 5 Гныдюк В.С., Мельник И.А. Технологические аспекты переработки органических отходов животноводческих комплексов и птицефабрик методом биологической ферментации в органические удобрения нового поколения "Биоферм" // Сб. науч. трудов Подольского гос. Аграрно-техн. ун. Каменец-Подольский, 2009. № 17. – С. 97–101.
- 6 ProBios-Пробиотик [Электрон.ресурс] – 1017. -URL: <http://odliva.lt/ru/doktor.html>

М.С. Дуамбеков, Н.Б. Молдагулова, А.Ж. Аюпова, Э.Ж. Хасенова, Д.Ж. Сембаева

"Халықаралық экология академия" мекемесі, Астана, Қазақстан

Органикалық қалдықтарды ферменттеуге қабілеті бар белсенді микроорганизмдер штамдарының фенотиптік қасиеттерін зерттеу

Аннотация: Бұл мақалада ауыл шаруашылық кәсіпорындарында органикалық қалдықтарды өңдеу үшін белсенді микроорганизмдердің оқшаулану және скринингінің нәтижелері келтірілген. Органикалық қалдықтарынан 32 изолят бөлініп алынды және де бөлініп алынған микроорганизмдерге скрининг жұмыстары жүргізіліп олардың мал мен құс қалдықтарында өсу қабілетін, көң және көңді жағымсыз иістерін бейтараптандыру, сондай-ақ өсу кезінде органикалық заттардың температурасын көтеру мүмкіндігі анықталды. Скрининг нәтижелері бойынша органикалық қалдықтарда репродукциялауға қабілетті 15 микроорганизм өсіндісі таңдалды. Өсіндіні әрі қарай іріктеу ферментативті белсенділікпен жүзеге асырылды. Таңдалған изоляттардың амиластикалық, протеолитикалық, целлюлитикалық және липаза белсенділігі зерттелді. Органикалық қалдықтарды ферменттеуге қабілетті микроорганизмдердің белсенді штамдарының фенотиптік қасиеттері (физиологиялық, биохимиялық, культуральдік және морфологиялық) бірқатар сынақтар жасау арқылы зерттелді.

Түйін сөздер: микроорганизмдер, органикалық қалдықтар, жануарлардың қалдықтары, құс саңылықтары, ферменттеу.

М.С. Duambekov¹, N.B. Moldagulova², A.Zh. Ayupova³, E.Zh. Khassenova⁴, D.Zh. Sembaeva⁵

«International Ecology Academy», Astana, Kazakhstan

The study of the phenotypic properties of active strains of microorganisms capable of fermenting organic waste

Abstract: This paper presents the results of the isolation and screening of microorganisms that are promising for the processing of organic waste in agricultural enterprises. Of the organic waste, 32 isolates were isolated by the method of cumulative culture and screening of the isolated microorganisms for their ability to grow on livestock and poultry farms, the ability to neutralize the unpleasant odors of manure, and also the ability to increase the temperature of organic substances during growth. Based on the results of the screening, 15 cultures of microorganisms capable of reproduction in organic wastes were selected. Further selection of cultures was carried out by enzymatic activity. Amylolytic, proteolytic, cellulolytic and lipase activity of selected isolates was studied. Phenotypic properties (physiological, biochemical, cultural and morphological) of active strains of microorganisms capable of fermenting organic waste were studied by means of testing.

Keywords: microorganisms, organic waste, animal waste, bird droppings, fermentation.

References

- 1 Kapustin V.P. Obosnovanie sposobov i sredstv pererabotki bespodstilochnogo navoza [Justification of the methods and means of processing of manure] (Tambov, 2002, 80 p.) [in Russian]
- 2 Kovalev N.G. Novye tehnologii vysokokachestvennyh udobrenij i kormovyh dobavok [New technologies of high-quality fertilizers and feed additives] (Tver' - 2000. - S. 1-25). [in Russian]
- 3 Shablin, P.A. Primenenie JeM-tehnologii v sel'skom hoz'jajstve [Application of EM technology in agriculture] Mikrobiologicheskie preparaty "Bajkal JeM1", "Tamir", "JeM-Kurunga" [Microbiological preparations "Baikal EM1", "Tamir", "EM-Kurung"], Prakticheskaja biotehnologija v sel'skom hoz'jajstve, jekologii, zdavoohranenii [Practical biotechnology in agriculture, ecology, healthcare] Moscow (2006) 23-36 [in Russian]
- 4 Biopreparat dlja pererabotki navoza [Biological product for manure processing] - 1016.-BIOFOR(Farming. Available at: <http://elektroximnab.ru/biopreparaty-bioforce/bakterii-dlja-zhivotnovodstva-i-pticevodstva>).
- 5 Gnydjuk V.S., Mel'nik I.A. Tehnologicheskie aspekty pererabotki organicheskikh othodov zhivotnovodcheskih kompleksov i pticefabrik metodom biologicheskoy fermentacii v organicheskie udobrenija novogo pokolenija "Bioferm" [Technological aspects of processing organic waste from livestock farms and poultry farms using biological fermentation into organic fertilizers of the new generation "Bioferm"] Kamenec-Podol'skij, (17) 97-101 (2009) [in Russian]
- 6 ProBios-Probiotik [Electronic resource] - 1017. Available at: <http://odliva.lt/ru/doktor.html>

Сведения об авторах:

Дуамбеков М.С. - доктор технических наук, профессор, Президент Учреждения "Международная академия экологии", Рыскулбекова 16/1, ВП-12, Астана, Казахстан.

Молдагулова Н.Б. - кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник Учреждения "Международная академия экологии", Рыскулбекова 16/1, ВП-12, Астана, Казахстан.

Аюпова А.Ж. - магистр, старший научный сотрудник Учреждения "Международная академия экологии", Рыскулбекова 16/1, ВП-12, Астана, Казахстан.

Хасенова Э.Ж. - магистр, старший научный сотрудник Учреждения "Международная академия экологии", Рыскулбекова 16/1, ВП-12, Астана, Казахстан.

Сембаева Д.Ж. - научный сотрудник Учреждения "Международная академия экологии", Рыскулбекова 16/1, ВП-12, Астана, Казахстан.

Duambekov M.S. - Doctor of Technical Sciences, Professor, President of the "International Academy of Ecology", Ryskulbekov 16/1, VP-12, Astana, Kazakhstan.

Moldagulova N.B. - Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher of the "International Academy of Ecology", Ryskulbekova 16/1, VP-12, Astana, Kazakhstan.

Ayupova A.Zh. - Master, Senior Researcher of the "International Academy of Ecology", Ryskulbekov 16/1, VP-12, Astana, Kazakhstan.

Khassenova E.Zh. - Master, Senior Researcher of the "International Academy of Ecology", Ryskulbekov 16/1, VP-12, Astana, Kazakhstan.

Sembayeva D.Zh. - Research Fellow of the "International Academy of Ecology", Ryskulbekov 16/1, VP-12, Astana, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 17.12.2018

¹ Л.Н. Гумилев атындағы Еуразиялық ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

² С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Павлодар, Қазақстан
(E-mail: ¹ zhangazin_sayan@mail.ru, ² ualieva_rimma@mail.ru)

Ақуыздар экспрессиясының өсімдікті жүйесі

Аннотация: Қазіргі уақытта ақуыздар экспрессиясының жүйелері ретінде өсімдіктердің транзистентті және трансгенді экспрессиялары қолданылады. Бұл аз уақыт ішінде ақуыздың белгілі бір мөлшерін алуға мүмкіндік береді, сонымен қатар бұл қауіпсіз және экономикалық тиімді болып табылады.

Түйін сөздер: өсімдік жүйесі, вирустық векторлар, ақуыздар экспрессиясы, транзистентті экспрессия, трансгенді экспрессия.

DOI: <https://doi.org/10.32523/2616-7034-2018-125-4-49-58>

Қазіргі уақытта ақуыздар экспрессиясының жүйелері ретінде түрлі прокариоттық және эукариоттық жасушалар мен ұлпалар қолданылады: ашытқылар, бунақденелілердің ұлпа культуралары, трансгенді өсімдіктер мен сүтқоректілердің жасуша культуралары. Әр жүйенің өзінің кемшіліктері мен артықшылықтары бар. Көптеген жағдайларда экспрессияның прокариоттық жүйелері қолдануға жеңіл және экономикалық жағынан тиімдірек. Алайда, прокариоттық жасушалар пост-трансляциялық модификацияларға қабілетсіз болғандықтан, бұндай жүйенің функционалды белсенділігі үшін түрлендіруді қажет етпейтін ақуыздар өндірілуінде қолданылады. Сүтқоректілердің жасуша культураларымен ақуыздарды алу кезінде, пост-трансляционды модификация мәселесін шешуге мүмкіндік туады, бірақ осындай жүйелерде ақуыздарды алу өте қымбат және көп уақытты қажет етеді.

Қазіргі уақытта ақуызды алуда биотехнологиялық компанияларға перспективті және үлкен қызығушылық танытатын өсімдік жүйесі болып табылады. Соңғы он жылдықта экспрессияның көптеген тиімді өсімдікті жүйелері жетілдірілді. Бактериялар, жануар жасушаларының культуралары сияқты дәстүрлі продуценттерге балама ретінде генетикалық түрлендірілген өсімдік көмегімен рекомбинантты ақуыздар өндірісіне жол ашылды.

Ақуыздарды алудағы басқа жүйелерге қарағанда, өсімдіктер экономикалық, қауіпсіздік пен тиімділігі жағынан көптеген артықшылықтарға ие. Өсімдіктердің өсуіне тек су, топырақ, жарық пен тыңайтқыштың азғантай мөлшері қажет, сондықтан қымбат ашпартураның (ферменттердің), культуралды орта мен зарарсыздандыру жүйелердің болуына тәуелді бактериялар, ашытқылар, жануарлар жасушаларының культивирлеуіне қарағанда, өсімдіктердің өсуіне кететін шығындар әлдеқайда аз. Осыған байланысты, өсімдіктерде алынатын ақуыздардың құны, бактериялар мен сүтқоректілер жасушаларынан алынатын ақуыздарға қарағанда, бірнеше есе төмен [1].

Өсімдік жасушалары биологиялық жағынан қауіпсіз, себебі өсімдік адам және жануарлармен ортақ патогендері жоқ. Сол себепті, өсімдікте алынатын өнімдер адам мен жануарларға қауіпсіз [2].

Бактерияларға қарағанда, өсімдіктерді ақуыз продуценті ретінде қолданудағы басты артықшылық – соңғы өнімді ластайтын және мақсатты ақуызды тазартуды қиындататын заттардың, яғни эндотоксиндердің жоқтығы. Эндотоксиндер бактерияларды жасушалар ыдыраған кезде пайда болады, сондықтан рекомбинантты ақуызды өндірісте алу кезінде жасуша культуралары өңдеуден өту керек [3], ал өсірілген өсімдіктер биомассасының үлкен мөлшері келесі өңдеуге дейін, оңай тоқтатылып сақталынады.

Бактерия және ашытқылармен салыстырғанда, өсімдіктер мен жануарларда ақуыздардың посттрансляционды түрлендіру жүйелері ұқсас. Сол себепті, өсімдіктерде адам мен жануарлар ақуыздарына толығымен функционалды және іс жүзінде бірдей ақуыздар алынуы мүмкін. Көптеген зерттеулер, цитокининдер мен ферменттер, гормондар, вакциналар, антиденелер, өсу реттеушілері, адамның сарысу ақуыздары сияқты биологиялық белсенділіктері сақталынған,

сүтқоректілердің күрделі функционалды ақуыздарын да өсімдіктерде алуға болатынын көрсетті [4].

Қажет болған жағдайларда, алынған ақуыз мөлшерін, өсірілетін өсімдіктердің мөлшерін жоғарылату арқылы, салыстырмалы тез уақытта көбейтуге болады.

Өсімдіктердегі рекомбинантты ақуыздар бірнеше негізгі әдістермен алынуы мүмкін: генетикалық трансформация арқылы (яғни трансгенді өсімдікті жасау арқылы), хлоропласттардағы экспрессия немесе транзиентті (уақытша) экспрессияның жүйесі арқылы.

Өсімдіктердегі ақуыздардың транзиентті экспрессиясы. Өсімдіктерде ақуыздарды алудың транзиентті экспрессия әдісі осындай мақсатта жасалған басқа жүйелерге қарағанда көптеген артықшылықтары бар. Керекті ақуыз мөлшерін бірнеше күнде алуға болады және қысқа уақыт аралағында ақуыз экспрессиясы жүреді, себебі трансгенді өсімдікті жасаудың қажеті жоқ. Сонымен қатар, генетикалық трансформацияланған өсімдіктің тұрақты түрін алуға қарағанда транзиентті экспрессияның техникалық орындалуы жеңіл.

Өсімдіктерде ақуыздың транзиентті экспрессия болуы үшін 1997 жылы құрастырылған агробактериалды инфильтрация әдісін пайдалануға болады [5]. Ол үшін *Agrobacterium tumefaciens* жасушалар культурасын промотор, мақсатты ген мен транскрипция терминаторын кодтайтын Т-ДНҚ-сы бар плазидамен трансформациялайды. Трансформацияланған агробактерия суспензиясын вакуум-инфильтрация немесе шприц арқылы өсімдік ұлпасына енгізеді. Агробактерия Т-ДНҚ-ны өсімдік ядросына тасымалдайды, бұл жерде ол эписома түрінде болады. Ядрода мақсатты геннің транскрипциясы, ал одан кейін цитоплазмада транскриптің трансляциясы жүреді.

Белгілі болғандай, өсімдіктерде рекомбинантты ақуыздың жинақталуы көптеген факторларға тәуелді. Көп уақытта, бір ген экспрессиясына мінсіз келетін экспрессионды жүйелер, басқа генге мүлде жарамсыз болып келеді. Сондықтан ақуыз өнімділігінің жаңа жүйесін алу кезінде транзиентті экспрессия әдісін де қолдануға ыңғайлы, ол арқылы өсімдіктің белгілі бір түрінде нақты ақуыздың экспрессия дәрежесін тез, әрі аз шығынмен және әр түрлі векторларды қолданып, бағалауға болады.

Өсімдіктерде мақсатты ақуыздың айтарлықтай мәнді мөлшерін тез уақытта алуға мүмкіндік беретін тиімді әдістердің бірі өсімдіктер вирустарының негізінде рекомбинантты векторларды қолдану болып табылады.

Вирусты векторлардың көмегімен ақуызды алудың көп артықшылығы бар. Өсімдіктерде вирусты РНҚ-ның репликация жылдамдығы айтарлықтай тез, сол арқылы зақымданған жасушаларда мақсатты геннің мРНҚ жоғары көшірмеленуіне қол жеткізуге болады. Бұл бірнеше күн уақыт аралығында өсімдіктерде жоғары деңгейде мақсатты ақуызды экспрессиялауға мүмкіндік береді [6].

Вирусты векторлар пайдаланылуды екі нұсқасы бар: толыққанды вирусты реттілік ретінде (бірінші буынды векторлар) және вирусты реттіліктің жартысы ғана бар векторлар (екінші буынды векторлар) түрінде. Бірінші буынды векторлар – вирусты ақуыздардың толық жиынтығымен қоса мақсатты ақуызды да, синтездейтін толыққанды функционалды вирустар. Бұл кезде мақсатты ақуызды кодтайтын нуклеотидті реттілік қабық ақуызының субгеномды промоторы сияқты күшті вирусты промоторының бақылауында көшірмеленеді немесе қабық ақуызының реттілігімен қосылып кетеді (кішкене ақуызды фрагменттердің экспрессиясы үшін қолданылады). Мақсатты ақуыздың гені инфекциянды нуклеин қышқылы, я вирустың ересек бөлшектері арқылы өсімдік жасушаларына түседі. Вектордың вируленттілігіне байланысты, трансфицирленген өсімдіктердің толық зақымдануына екі-үш жұмадай уақыт керек [7].

Темекі теңбілінің вирусы (ТТВ) негізінде алғаш рет ақуыздардың транзиентті экспрессиясына арналған вектор алынған болатын. Вирион бетіне қойылған малярия қоздырғышының эпитоптарымен ТТВ рекомбинантты бөлшектерін қолдану арқылы алынған вакцина ең алғашқы потенциалды вакцинаның бірі болды [8]. Капсид бетінде қоянның папилломавирустарының ақуыздары немесе эпитоптарымен рекомбинантты ТТВ бөлшектерін алған кезде, осындай тәсілді жануарларды иммунизациялау мақсатында вакциналарды алу үшін қолдануға болатыны дәлелденді [9]. Осындай бөлшектер негізіндегі препараттармен қояндарды егу вирустармен қайта зақымданғаннан жануарлардың өмірін сақтап қалдырды.

Өсімдік ағзасында өздігінен таралатын инфекциянды өсімдік вирусын вектор ретінде пайдаланудың кемшілігіне вируспен мақсатты (бөтен) геннің жоғалып кету мүмкіндігі болып табылады. Мысалы, *N. Benthamiana* өсімдіктерінде ТТВ арқасында экспрессияланатын қоян папилломавирусының L1 ақуызын кодтайтын реттілік өсімдік өсуі кезінде вируспен жоғалып кететіні жұмыстардың бірінде көрсетілді [10]. Бірінші буынды вирусты векторлардың басқа кемшіліктеріне мақсатты ақуыз генінің шектелген өлшемі мен вирусты қабық ақуыздар синтезіне жасушаның айтарлықтай қорын беретіне байланысты экспрессия дәрежесінің салыстырмалы төмен болуы жатады [11].

Осындай кемшіліктерден арылу үшін, вирусты реттіліктің кейбір бөліктерінен жоюда әрекеттер жасалды, мысалы, капсидті ақуыздар және вирустың жасушааралық қозғалысы мен зақымдау процестеріне қатысатын вирусты ақуыздарды кодтайтын реттіліктерді. Осылайша, бұндай редуцирленген вирустар жасушааралық қозғалысқа қабілетсіз және өсімдік жасушаларына ене алмайды, бірақ вирусты РНҚ репликациясына қабілеттілігін сақтайды. Соңдықтан өсімдік жасушаларына редуцирленген вирустар негізіндегі векторларды ендіру үшін басқа құралдарды қолдану қажет.

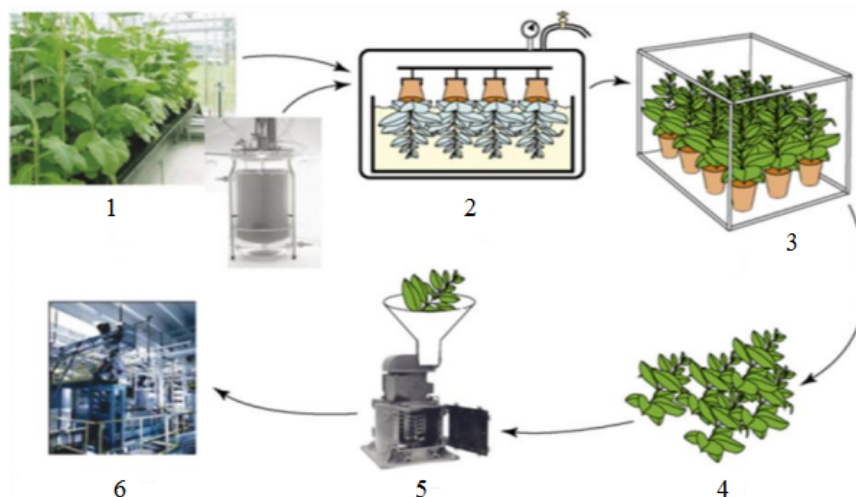
Өсімдік жасушаларына вирусты векторларды, вирусты экспрессионды векторды алып жүретін агробактериялармен өсімдік ұлпаларын инфильтрациялау жолымен жеткізуге болады. Агробактерия трансформациясы үшін Т-ДНҚ зонасында промотор, мақсатты геноммен вирусты реттіліктер мен терминаторды кодтайтын реттіліктері бар құрылым қажет. Өсімдік жасушалары осындай құрылыммен трансформацияланған агробактериямен қатынасы кезінде, Т-ДНҚ аймағы жасуша ядросына тасымалданады. Транскрипция нәтижесінде РНҚ пайда болады, ол цитоплазмада реплицирленеді. Вирусты РНҚ-лардың трансляциясы нәтижесінде мақсатты ақуыздың экспрессиясы жүреді.

Агробактерияның қатты араластырылған суспензиясымен бүкіл өсімдікті де, оның жеке бөліктерін (жапырақтарды) де агрофилтрациялауға болады. Суспензиядағы өсімдік пен бактерия мөлшеріне, қолданылатын векторға байланысты мақсатты ақуыз экспрессиясының максималды дәрежесіне 4-10 күнде жетуге болады, сонымен қатар қызықтыратын геннің қасиеттеріне байланысты 1 кг таза жапырақтар биомассасынан 5 г-ға дейін рекомбинантты ақуызды алуға болады [7].

Алайда, жаңа өсімдіктерден ақуызды алудың басқа жүйелеріндегідей, өсімдіктің бұзылмауы мен ақуыздың деградациясына жол бермеуі үшін, өсімдік ұлпалары бірден өңделу керек. Бірақ осы кемшілікке қарамастан, фитовирусты векторларды қолдану арқылы транзистентті экспрессия көмегімен түрлі медициналық пен фармакологиялық мақсатта 50-ден астам ақуыздар алынады [12]. Әсіресе, биологиялық белсенді адамның өсу гормоны алынды, оның экспрессия дәрежесі салыстырмалы үлкен болды – өсімдік салмағының 1г-на шамамен 1 мг алынды [13]. Сонымен бірге жоғары экспрессия дәрежесі бар (2-3 мг/г) *Yersinia pestis* вакцинді антигендері алынды, және осы антигендер ауруға қарсы қорғаныштың жоғары дәрежесімен қамтамасыз ететіні көрсетілді [14]. Зерттеушілердің басқа тобы экспрессия дәрежесі шамамен 0,8 мг/г бар туберкулез антигендерін алды [15]. Сонымен қатар, өсімдіктерде құтыру [16], адам папилломавирусының [17], тұмау вирусының [18], термолабильді энтеротоксиннің қоздырушыларының [19] және тағы басқа вакцинді ақуыздарының өнімділігі үшін фитовирустар негізіндегі векторлар қолданылады. Өсімдіктерде вирусты векторлардың көмегімен күрделі гетероолигомерлі ақуыздарды алуға мүмкін екендігін айтқан жөн. Мысалы, IgG толыққанды антиденелерін, биомассаның 1 кг-на 0,5 г шамасында, ауыр және жеңіл тізбектер реттілігін кодтайтын, ТТВ мен ХВК негізінде бәсекелеспейтін векторлардың коинфильтрациясы арқылы алынды [7]. Large Scale Biology Corporation фармацевтикалық компаниясы В-жасушалық неходжкиндік лимфомаларды емдеуге арналған вакциналарды алу мақсатында жүйені бейімдендірді, ол клиникалық сынақтардың алғашқы сатысын ойдағыдай өтті [20].

Өсімдік жасушаларына вирусты векторларды жеткізу үшін агробактерияларды қолданып, транзистентті экспрессия жүйесімен ақуыздардың өндірісін оңай автоматтандыруға болады (*Fraunhofer USA Center for Molecular Biotechnology*, <http://www.fraunhofer-cmb.org/> компаниясында сияқты). Агробактерия суспензиясымен өсімдіктерді инокуляциялау әдісінің

ең оңайы өсімдіктің жерүсті бөлігінің батуы мен 10-30 секунд аралығында кішкене сейілтудің пайда болуын (0,8-0,9 бар) ұйғарады [7]. Вирусты векторлардың көмегімен транзистентті экспрессия әдісі арқылы рекомбинантты ақуыздарды алудың сызбасы 1-ші суретте көрсетілген.



Сурет 1 – Вирустық векторлардың көмегімен транзистентті экспрессия әдісі арқылы рекомбинантты ақуыздарды алудың сызбасы

1 - өсімдіктер мен агробактерия культураларын өсіру; 2 - өсімдіктердің агроинфилтрациясы; 3 - өсімдіктердің инкубациясы; 4 - биомассаны жинау; 5 - ақуыздардың экстракциясы; 6 - ақуыздарды өндірістік тазалау.

Қазіргі уақытта вектор негізіндегі көптеген вирустар ақуыздар немесе капсидті ақуыздармен біріккен пептидтердің экспрессиясына ойдағыдай қолданылатыны туралы сипатталған: темекі теңбілінің вирусы (ТТВ), картоптың Х – вирусы (КХВ), бамбук теңбілінің вирусы (BaMV), папайя вирусы (PapMV), жоңышқа теңбілінің вирусы (AIMV), сиыр асбұршағы теңбілінің вирусы (CPMV), сары бұршақ ергежейлілігінің вирусы (BeYDV), қияр теңбілінің вирусы (CMV) және т.б. [21]. Мысалы, *Pseudomonas aeruginosa* көкіріңді таяшасының эпителийымен қоса CPMV капсидтерімен беткейде жасалған егу тышқандарды аурудан сақтап қоятын [22]; ХВК негізіндегі вектор арқылы адам 16 папиломавирусының E7 онкопротеині экспрессияланған өсімдіктерден алынған экстракттармен ісік жасушаларын егу кезінде, тышқандарда ісіктердің пайда болуына әкелмеді [23]. Алайда, жекеленген пептидтер немесе түрлі мақсаттағы ақуыздарды алу үшін пайдаланған ТТВ мен ХВК негізіндегі векторлар жиірек қолданылады [21, 24].

ТТВ мен ХВК – мөлшері кішкентай вирустар (шамамен 6,5 мың ж.н), сондықтан осы вирустар негізіндегі векторлар арқылы аз уақытта кішкентай мөлшерлі жекелеген мақсатты гендерді жоғары дәрежеде экспрессиялауға болады. Бірақ, осы вирустар негізіндегі векторға екі немесе одан да көп мөлшері үлкен мақсатты гендерді қосқан кезде, мақсатты ақуыздардың аз жиналуы байқалады [11, 24]. Осыған вирусты геномынан үлкен мөлшерлі бөтен кірістірулердің шығарылумен жанамаланатын рекомбинация, немесе вирус репликациясының төменгі тиімділігі себеп болуы мүмкін. Бірнеше гендер немесе мөлшері үлкен гендердің бір уақытта экспрессиялаудың мәселелерін шешудің бір жолы - үлкен мөлшерлі кірістірулерді тұрақты таси алатын және олардың экспрессиясын тиімді іске асыруға мүмкіндігі бар, үлкен геномды вирустар негізіндегі векторларды қолдану болып табылады. Осындай векторларды алуда тартымды үміткердің бірі *Closteroviridae* тұқымдасының вирустары, яғни кластеровирустар болып табылады. Кластеровирустар тұқымдасының өкіліне геном өлшемі 19 мың ж.н. астам болатын цитрус тектестер тристеңесінің вирусы жатады.

Қазіргі уақытта өсімдіктердің рекомбинантты ақуыздардың көзі ретінде пайдалануға шек қоятын бір ғана мәселе бар, ол кейбір ақуыздар жинақталуының төменгі көрсеткіші болып табылады. Ол үшін экспрессияның түрлі сатылары оңтайландырылуы мүмкін.

Трансгенді өсімдіктерден де, ақуызды транзистентті экспрессиялайтын өсімдіктерден де ақуызды алу кезіндегі проблема мақсатты ақуыз генінің РНҚ үндемеуі (РНҚ-сайленсинг) болып табылады. РНҚ-сайленсинг жасушалар ішінде вирустың репликациясына әсер ету арқылы көптеген эукариоттардың вирусқа қарсы қорғанышында маңызды рөл атқарады [25]. РНҚ үндемеу жасушада вирусты РНҚ бар кезінде ғана емес, сонымен бірге бөтен ген болғанда да белсендірілуі мүмкін. Сондықтан РНҚ үндемеу себебінен ақуыз экспрессиясының дәрежесі күткендігінен айтарлықтай төмен болуы мүмкін. Тоқсаныншы жылдарда *Potyviri-dae* тұқымдасына жататын вирустарының НСРго ақуызында РНҚ-сайленсингті басу қабілеті ашылмағанша, өсімдіктердегі мақсатты ақуыздың аз жинақталуы туралы мәселе көп уақыт бойы орын алды [26]. Нәтижесінде өсімдіктер мен жануарлар вирустарында сәйкес ақуыздар анықталды. Вирусты супрессорлар (мысалы, TBSV вирусының Р19 ақуыз-супрессоры) мен мақсатты ақуыздардың коэкспрессиясы мақсатты ақуыз генінің РНҚ үндемеуіне тиімді төтеп бере алатыны кейінгі уақытта көрсетілді [27].

E. coli мен дрожжиларда жасалған зерттеулер сирек кодондар мен жекелеген тРНҚ саны трансляцияға қажет уақытқа әсер ете алатынын көрсетті. Қандай да бір ағзада трансляция тиімділігін арттыруға бағытталған тәсілдердің біріне амин қышқылдық реттілікте көрінбейтін, нуклеотидті реттіліктің өзгеру жолымен жүретін кодондық құрылымның оңтайландырылуы жатады. Әртүрлі жұмыстарда осындай тәсілді қолдану өсімдіктердегі ақуыздардың экспрессия дәрежесін 5-100 рет көтеруге мүмкіндік берді [28, 29]. Мысалы, бір жұмыста *Bacillus thuringiensis cryIA* инсектицидті ақуызды кодтайтын геннің экспрессия дәрежесін трансгенді қызанақтар мен темекіде салыстырды. Реттілігі жартылай оңтайландырылған геномы бар өсімдіктерде (шамамен нуклеотидті құрамның 3%-ы) экспрессия дәрежесі 10 есе өсті, ал реттілігі толық оңтайландырылған өсімдіктерде (шамамен нуклеотидті құрылымның 21%-ы) экспрессия дәрежесі 100 есе өсті. Осы әдістің пайдалылығы туралы темекіде GFP экспрессиясы жөніндегі тәжірибелер де айтып отыр [30]. Оңтайлы кодондық құрылым бір өсімдікке жататын ядро мен пластидтер арасында да ерекшеленеді [31]. Қолданылатын өсімдіктің оңтайлы кодондарымен сәйкес керекті реттілікті пайдалану, синтезделетін ақуыздың мөлшерін мәнді жоғарлатуы мүмкін, яғни соңғы өнімнің құнын да төмендетуге мүмкіндік туады. Кодондық құрылымның оңтайландырылуына сайт спецификалық мутагенезді, я болмаса химиялық синтезделген реттілікті қолдануға болады.

Вирусты РНҚ-транскрипте РНҚ молекулаларының бұзылуына әкеле алатын спецификалық реттіліктер болуы мүмкін [32]. Сондықтан, рекомбинантты ақуыздардың көбеюіне, кейбір жағдайларда осындай реттіліктердің пайда болуын алдын алу керек. Мысалы, мРНҚ-ның сплайсинг сайттары ретінде әрекет ете алатын реттіліктер [33], транскрипция терминациясының сайттары, рестрикция сайттары, ДНҚ метилденуінің сайттары және т.б.. Алайда, өсімдіктерде рекомбинантты ақуыздар экспрессиясының жоғарлауына қажет жағдайлардың таңдап алынуы, осы күнге дейін эмпирикалық жолмен өтеді [34].

Трансгенді өсімдіктер ақуыздарды алу жүйесі ретінде. Трансгенді өсімдіктерді жасау кезінде өсімдік жасушасының генетикалық трансформациясы мен трансформацияланған жасушадан өсімдіктің келесі регенерациясы сияқты процестер қамтылады. Өсімдіктің генетикалық трансформацияға қабілеттілігі алғаш рет 80-шы жылдары анықталды [35]. Трансгенді өсімдіктерде алғашқы рекомбинантты фармацевтикалық ақуыз (өсу гормоны) мен антиденелер 1986 мен 1989 жылдары сәйкесінше ашылды [36, 37]. Бірақ трансгенді жүгеріден коммерциялық мақсатта рекомбинантты ақуыз авидинді тек 1997 жылы ғана ала бастады [38]. Бұл өндірістік масштабтарда ақуыздарды алу үшін өсімдіктерді шынымен қолдануға болатынын дәлелдеді.

Трансгенді өсімдіктерден алынған вакцинды ақуыздардың алғашқысы, 1922 жылы трансгенді темекіден алынған, гепатит В вирусының беткейлік антигендері болды [39]. Осыдан кейін көптеген зерттеу топтары өсімдіктерде түрлі патогендер мен вирустардың вакцинды ақуыздарын алу жолдарын зерттеді. Темекі, картоп, қызанақ, люцерна және т.б. трансгенді өсімдіктерден вакцинды ақуыздардың үлкен мөлшері алынды: тырысқақ токсинінің В-суббірлігі, гепатит В беткейлік антигені (HBsAg), рота- және папиломавирустардың капсидті

ақуыздары мен эпитоптары, құтыру вирусының пептидтері, қызылша қоздырушысының гемагглютининдері мен басқалары [40].

Қазіргі уақытта трансгенді өсімдіктерді алу процесі қиынға түспейді және өсімдіктерде ақуыздарды алудың ең танымал әдісі болып табылады. Оның негізінде ақуыздарды алу үшін түрлі қызықты, әрі үнемді жүйелер жасалды. Мысалы, астық тұқымдастардың дәнінде ақуыздардың жинақталуы, бұл алынатын ақуыздардың қасиеттерін сақтай отырып, бөлме температурасында осы дәндерді көп уақыт бойы сақтауға мүмкіндік береді [41]. Ақуыздарды алудың осындай әдісі барлық климаттық жағдайларда ақуыздардың үлкен мөлшерін алуға мүмкіндік туғызады. Алайда, бұндай әдістің кемшіліктері астық тұқымдастырдың культивирлеуіне кететін көп уақыт пен жабайы типті өсімдіктен айқастырылған тозаңдану кезінде гендердің тасымалдануының мүмкіндігі болып табылады, ал бұл айтылған әдістің қоғамдық қабылдауына айтарлықтай шек қояды.

Трансгенді өсімдіктерден ақуыздарды алудың басты кемшілігіне гендер экспрессиясының транскрипционды немесе посттранскрипционды басудың (gene silencing) салдарынан болатын мақсатты ақуыз экспрессиясы дәрежесінің болжамды болмауы жатады. Трансгенді өсімдіктермен алынатын мақсатты ақуыздардың экспрессия дәрежесі әдетте төмен – шамамен жалпы ақуыздың 0,1%-ы. Мысалы, темекінің трансгенді ұлпаларында адамның сарысу альбуминінің мөлшері жалпы ақуыздың санынан 0,02%-ды құрады [42]. Эритропоэтин (0,003%) мен b-интерферонға (0,001%) одан да төмен мәндер алынды [43, 44]. Ақуыздың төмен өнімділігі, оның бүкіл өндіріс бағасының негізгі бөлігін алатын, тазарту құнын жоғарлатады. Рекомбинантты лактоферрин өнімділігінің экономикалық тиімділігіне жүргізілген жұмыстарда [45] соңғы өнімнің құны экспрессия дәрежесіне кері пропорционал екені көрсетілді. Сондықтан, ақуыздар алудағы басқа гетерологиялық жүйелерге қарағанда, өсімдіктер де осындай жүйе ретінде бәсекеге қабілетті болу үшін, барлық ери алатын ақуыздардың кем дегенде 1% экспрессия дәрежесін алу керек [34].

Қазіргі кезде трансгенді өсімдіктерді алу әдістері жақсы жетілдірілгенімен, трансгенді өсімдікті жасау, бұл кезекте одан ақуызды алу, айтарлықтай уақытты қажет етеді. Бұл, сонымен қатар ақуыз көзі ретінде генетикалық трансформацияланған өсімдіктердің қолдану мүмкіншіліктерін шектейді. Одан басқа, трансгенді өсімдіктерді культивирлеу биоқауіпсіздік талаптары мен мемлекеттік шектеулердің өсуімен қиынға түседі.

Әдебиеттер тізімі

- 1 Evangelista R. L., Kusnadi A. R., Howard J. A., Nikolov Z. L. Process and economic evaluation of the extraction and purification of recombinant beta-glucuronidase from transgenic corn // *Biotechnol. Prog.* – 1998. – №14 (4). – P. 607-614.
- 2 Giddings G., Allison G., Brooks D., Carter A. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals // *Nat. Biotechnol.* – 2000. – №18(11). – P. 1151-1155.
- 3 Fischer R., Hoffmann K., Schillberg A., Emans N. Antibody production by molecular farming in plants // *J Biol Regul Homeost Agents.* – 2000. – №14. – P. 83-92.
- 4 Lijnard D., Sourrouille C., Gomord V., Faye L. Pharming and transgenic plants // *Biotechnol Ann. Rev.* – 2007. – №13. – P. 115-147.
- 5 Kapila J., De Rycke R., van Montagu M., Angenon G. An agrobacterium-mediated transient gene expression system for intact leaves // *Plant Sci.* – 1997. – №122. – P. 101-108.
- 6 Marillonnet S., Thoeringer C., Kandzia R., Klimyuk V., Gleba Y. Systemic Agrobacterium tumefaciens-mediated transfection of viral replicons for efficient transient expression in plants // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – №23. – P. 718-723.
- 7 Gleba Y, Klimyuk V., Marillonnet S. Viral vectors for the expression of proteins in plants // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2007. – №18(2). – P. 134-141.
- 8 Turpen T. H., Reim S. J., Charoenvit Y, Hoffman S. L., Fallarme V., Grill L. K. Malarial epitopes expressed on the surface of recombinant tobaccomosaic virus // *Biotechnol.* – 1995. – №13. – P. 5-357.
- 9 Palmer K. E., Benko A., Doucette S. A., Cameron T. I., Foster T., Hanley K. M., McCormick A. A., McCulloch M., Pogue G. P., Smith M. L., Christensen N. D. Protection of rabbits against cutaneous papillomavirus infection using recombinant tobacco mosaic virus containing L2 capsid epitopes // *Vaccine.* – 2006. №29.24 (26). – P. 5516-5525.
- 10 Kohl T., Hitzeroth I., Stewart D., Varsani A., Govan V. A., Christensen N. D., Williamson A. L., Rybicki E. P. Plant-produced cottontail rabbit papillomavirus L1 protein protects against tumor challenge: a proof-of-concept study // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – №13. – P. 845-853.

- 11 Avesani L., Marconi G., Morandini F., Albertini E., Bruschetta M., Bortesi L., Pezzotti M., Porceddu A. P. Stability of potato virus X expression vectors is related to insert size: implications for replication models and risk assessment // *Transgenic Res.* – 2007. №16(5). – P. 587-597.
- 12 Klimyuk V., Marillonnet S., Knaeblein J., McCaman M., Gleba Y. Modern Biopharmaceuticals: Production of recombinant proteins in plants // Edited by Knaeblein J; WILEY-VCH P. Verlag: GmbH & Co. KGaA. – 2005. – P. 893-917.
- 13 Gils M., Kandzia R., Marillonnet S., Klimyuk V., Gleba Y. High-yield production of authentic human growth hormone using a plant virus-based expression system // *Plant Biotechnol. J.* – 2005. – №3. – P. 613-620.
- 14 Santi L., Giritch A., Roy C. J., Marillonnet S., Klimyuk V., Gleba Y., Webb R., Arntzen C. J., Mason H. S. Protection conferred by recombinant *Yersinia pestis* antigens produced by a rapid and highly scalable plant expression system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – №103. – P. 861-866.
- 15 Dorokhov Y. L., Sheveleva A. A., Frolova O. Y., Komarova T. V., Zvereva A. S., Ivanov P. A., Atabekov J. G. Superexpression of tuberculosis antigens in plant leaves // *Tuberculosis (Edinb).* – 2006. – №61. – P. 342-541.
- 16 Yusibov V., Hooper D., Spitsin S., Fleysh N., Kean R., Mikheeva T., Deka D., Karasev A., Cox S., Randall J., Koprowski H. Expression in plants and immunogenicity of plant virus-based experimental rabies vaccine // *Vaccine.* – 2002. – №20. – P. 3155-3164.
- 17 Massa S., Franconi R., Brandi R., Muller A., Mett V., Yusibov V. Anti-cancer activity of plant-produced HPV16 E7 vaccine // *Vaccine.* – 2007. – №25. – P. 3018-3021.
- 18 Mett V., Musiychuk K., Bi H., Farrance C. E., Horsey A., Ugulava N., Shoji Y, de la Rosa P., Palmer G. A., Rabindran S., Streatfield S. J., Boyers A., Russell M., Mann A., Lambkin R., Oxford J. S., Schild G. C., Yusibov V. A plant-produced influenza subunit vaccine protects ferrets against virus challenge // *Influenza Other Respi. Viruses.* – 2008. – №2(1). – P. 33-40.
- 19 Wagner B., Hufnagl K., Radauer C., Wagner S., Baier K., Scheiner O., Wiedermann U., Breiteneder H. Expression of the B subunit of the heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* in tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana benthamiana* plants and its characterization as mucosal immunogen and adjuvant // *J. Immunol. Methods.* – 2004. – №287. – P. 203-215.
- 20 McCormick A. A., Reddy S., Reinl S. J., Cameron T. I., Czerwinski D. K., Vojdani F. Plant-produced idiotype vaccines for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: safety and immunogenicity in a phase I clinical study // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – №105. – P. 10131-10136.
- 21 Yusibov V., Rabindran S., Commandeur U., Twyman R. M., Fischer R. The potential of plant virus vectors for vaccine production. *Drugs R. D.* – 2006. – №7(4). – P. 203-217.
- 22 Brennan F. R., Gilleland L. B., Staczek J., Bendig M. M., Hamilton W. D., Gilleland H. E. Jr. A chimaeric plant virus vaccine protects mice against a bacterial infection // *Microbiology.* – 1999. – №145. – P. 2061-2067.
- 23 Franconi R., Massa S., Illiano E., Mullar A., Cirilli A., Accardi L. Exploiting the plant secretory pathway to improve the anticancer activity of a plant-derived HPV16 E7 vaccine // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2006. – №19. – P. 187-197.
- 24 Pogue G. P., Lindbo J. A., Garger S. J., Fitzmaurice W. P. Making an ally from an enemy: plant virology and the new agriculture // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2002. – №40. – P. 45-74.
- 25 Hamilton A. J., Baulcombe D. C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants // *Science.* – 1999. – №286. – P. 950-952.
- 26 Kasschau K. D., Carrington J. C. A counterdefensive strategy of plant viruses: suppression of posttranscriptional gene silencing // *Cell.* – 1998. – №95. – P. 461-470.
- 27 Voinnet O., Rivas S., Mestre P., Baulcombe D. An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus // *Plant J.* – 2003. – №33. – P. 949-956.
- 28 Perlak F. J., Fuchs R. L., Dean D. A., McPherson S. L., Fischhoff D. A. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. – №88(8). – P. 3324-3328.
- 29 Hamada A., Yamaguchi K. I., Ohnishi N., Harada M., Nikumar S., Honda H. High-level production of yeast (*Schwanniomyces occidentalis*). phytase in transgenic rice plants by a combination of signal sequence and codon modification of the phytase gene // *Plant Biotechnol. J.* – 2005. – №3. – P. 43-55.
- 30 Rouwendal G. J., Mendes O., Wolbert E. J. H., Boer A. D. Enhanced expression in tobacco of the gene encoding green fluorescent protein by modification of its codon usage // *Plant Mol. Biol.* – 1997. – №33(6). – P. 989-999.
- 31 Kawabe A., Miyashita N. T. Patterns of codon usage bias in three dicot and four monocot plant species. // *Genes Genet Syst.* – 2003. – №78(5). – P. 343-352.
- 32 Sullivan M. L., Green P. J. Post-transcriptional regulation of nuclear-encoded genes in higher plants: the roles of mRNA stability and translation // *Plant Mol. Biol.* – 1993. – №23(6). – P. 1091-1104.
- 33 Mishra S., Yadav D. K., Tuli R. Ubiquitin fusion enhances cholera toxin B subunit expression in transgenic plants and the plant-expressed protein binds GM1 receptors more efficiently // *J. Biotechnol.* – 2006. – №127. – P. 95-108.
- 34 Rybicki E. P. Plant-produced vaccines: promise and reality // *Drug Discov. Today.* – 2009. – №14(1-2). – P. 16-24.
- 35 Bevan M. W., Flavell R. B., Chilton M. D. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation // *Nature.* – 1983. – №304. – P. 184-187.
- 36 Hiatt A., Cafferkey R., Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants // *Nature.* – 1989. – №342. – P. 76-78.

- 37 Barta A., Sommengruber K., Thompson D., Hartmuth K., Matzke M. A., Matzke A. J. M. The expression of a napoline synthase human growth hormone chimeric gene in transformed tobacco and sunflower callus tissue // *Plant. Mol. Biol.* – 1986. – №6. – P. 347-357.
- 38 Hood E. E., Witcher D. R., Maddock S., Meyer T., Baszczynski C., Bailey M. Commercial production of avidin from transgenic maize: characterization of transformant production, processing, extraction and purification // *Mol. Breed.* – 1997. – №3. – P. 291-306.
- 39 Mason H. S., Warzecha H., Mor T., Arntzen C. J. Edible plant vaccines: applications for prophylactic and therapeutic molecular medicine // *Trends Mol. Med.* – 2002. – №8. – P. 324-329.
- 40 Tiwari S., Verma P. C., Singh P. K., Tuli R. Plants as bioreactors for the production of vaccine antigens // *Biotechnol. Adv.* – 2009. – №27(4). – P. 449-467.
- 41 Horn M. E., Woodard S. L., Howard J. A. Plant molecular farming: systems and products // *Plant Cell Rep.* – 2004. – №22. – P. 711-720.
- 42 Sijmons P. C., Dekker B. M., Schrammeijer B., Verwoerd T. C., van den Elzen P. J., Hoekema A. Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants // *Biotechnology.* – 1990. – №8. – P. 217-221.
- 43 Edelbaum O., Stein D., Holland N., Gafni Y., Livneh O., Novick D., Rubinstein M., Sela I. Expression of active human interferon- β in transgenic plants // *J. Interferon Res.* – 1992. – №12. – P. 449-453.
- 44 Kusnadi A. Production of recombinant proteins in transgenic plants: practical considerations // *Biotechnology and Bioengineering.* – 1997. – № 56. – P. 473-484.
- 45 Nandi S., Yalda D., Lu S., Nikolov Z., Misaki R., Fujiyama K., Huang N. Process development and economic evaluation of recombinant human lactoferrin expressed in rice grain // *Transgenic Res.* – 2005. – №4(3). – P. 237-249.

С.Б. Жангазин¹, Р.М. Уалиева²

¹ Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

² Павлодарский государственный университет имени С. Торайгырова, Павлодар, Казахстан

Растительная система экспрессии белков

Аннотация. В настоящее время применяются транзистентная и трансгенная экспрессия белков в растительной системе. Это позволяет получить определенное количество белка в короткий промежуток времени. Также это безопасно и экономически выгодно.

Ключевые слова: растительная система, вирусные вектора, белковая экспрессия, транзистентная экспрессия, трансгенная экспрессия.

S.B. Zhangazin¹, R.M. Ualiyeva²

¹ L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

² S. Toraygyrov Pavlodar state university, Pavlodar, Kazakhstan

Plant protein expression system

Abstract. Currently, transient and transgenic expression of proteins in the plant system is used. It allows to get a certain amount of protein in a short period of time. Also, it is safe and cost-effectively.

Keywords: plant system, viral vectors, protein expression, transient expression, transgenic expression.

References

- 1 Evangelista R. L., Kusnadi A. R., Howard J. A., Nikolov Z. L. Process and economic evaluation of the extraction and purification of recombinant beta-glucuronidase from transgenic corn, *Biotechnol. Prog.*, **14** (4), 607-614 (1998).
- 2 Giddings G., Allison G., Brooks D., Carter A. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals, *Nat. Biotechnol.*, **18** (11), 1151-1155 (2000).
- 3 Fischer R., Hoffmann K., Schillberg A., Emans N. Antibody production by molecular farming in plants, *J Biol Regul Hemeost Agents.*, **14**, 83-92 (2000).
- 4 Liñard D., Sourrouille C., Gomord V., Faye L. Pharming and transgenic plants, *Biotechnol Ann. Rev.*, **13**, 115-147 (2007).
- 5 Kapila J., De Rycke R., van Montagu M., Angenon G. An agrobacterium-mediated transient gene expression system for intact leaves, *Plant Sci.*, **122**, 101-108 (1997).
- 6 Marillonnet S., Thoeringer C., Kandzia R., Klimyuk V., Gleba Y. Systemic Agrobacterium tumefaciens-mediated transfection of viral replicons for efficient transient expression in plants, *Nat. Biotechnol.*, **23**, 718-723 (2005).
- 7 Gleba Y, Klimyuk V., Marillonnet S. Viral vectors for the expression of proteins in plants, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **18** (2), 134-141 (2007).
- 8 Turpen T. H., Reim S. J., Charoenvit Y, Hoffman S. L., Fallarme V., Grill L. K. Malarial epitopes expressed on the surface of recombinant tobaccomosaic virus, *Biotechnol.*, **13**, 5-357 (1995).
- 9 Palmer K. E., Benko A., Doucette S. A., Cameron T. I., Foster T., Hanley K .M., McCormick A .A., McCulloch M., Pogue G. P., Smith M. L., Christensen N. D. Protection of rabbits against cutaneous papillomavirus infection using recombinant tobacco mosaic virus containing L2 capsid epitopes, *Vaccine.*, №29.24 (26), 5516-5525 (2006)

- 10 Kohl T., Hitzeroth I., Stewart D., Varsani A., Govan V. A., Christensen N. D., Williamson A. L., Rybicki E. P. Plant-produced cottontail rabbit papillomavirus L1 protein protects against tumor challenge: a proof-of-concept study, *Clin. Vaccine Immunol.*, **13**, 845-853 (2006).
- 11 Avesani L., Marconi G., Morandini F., Albertini E., Bruschetta M., Bortesi L., Pezzotti M., Porceddu A. P. Stability of potato virus X expression vectors to insert size: implications for replication models and risk assessment, *Transgenic Res.*, **16** (5), 587-597 (2007).
- 12 Klimyuk V., Marillonnet S., Knaeblein J., McCaman M., Gleba Y. Modern Biopharmaceuticals: Production of recombinant proteins in plants, Edited by Knaeblein J.; WILEY-VCH P. Verlag: GmbH & Co. KGaA., 893-917 (2005).
- 13 Gils M., Kandzia R., Marillonnet S., Klimyuk V., Gleba Y. High-yield production of authentic human growth hormone using a plant virus-based expression system, *Plant Biotechnol. J.*, **3**, 613-620 (2005).
- 14 Santi L., Giritch A., Roy C. J., Marillonnet S., Klimyuk V., Gleba Y., Webb R., Arntzen C. J., Mason H. S. Protection conferred by recombinant *Yersinia pestis* antigens produced by a rapid and highly scalable plant expression system, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 861-866 (2006).
- 15 Dorokhov Y. L., Sheveleva A. A., Frolova O. Y., Komarova T. V., Zvereva A. S., Ivanov P. A., Atabekov J. G. Superexpression of tuberculosis antigens in plant leaves, *Tuberculosis (Edinb)*, **61**, 342-541 (2006).
- 16 Yusibov V., Hooper D., Spitsin S., Fleysh N., Kean R., Mikheeva T., Dekka D., Karasev A., Cox S., Randall J., Koprowski H. Expression in plants and immunogenicity of plant virus-based experimental rabies vaccine, *Vaccine.*, **20**, 3155-3164 (2002).
- 17 Massa S., Franconi R., Brandi R., Muller A., Mett V., Yusibov V. Anti-cancer activity of plant-produced HPV16 E7 vaccine, *Vaccine.*, **25**, 3018-3021 (2007).
- 18 Mett V., Musiychuk K., Bi H., Farrance C. E., Horsey A., Ugulava N., Shoji Y, de la Rosa P., Palmer G. A., Rabindran S., Streatfield S. J., Boyers A., Russell M., Mann A., Lambkin R., Oxford J. S., Schild G. C., Yusibov V. A plant-produced influenza subunit vaccine protects ferrets against virus challenge, *Influenza Other Respi. Viruses*, **2** (1), 33-40 (2008).
- 19 Wagner B., Hufnagl K., Radauer C., Wagner S., Baier K., Scheiner O., Wiedermann U., Breiteneder H. Expression of the B subunit of the heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* in tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana benthamiana* plants and its characterization as mucosal immunogen and adjuvant, *J. Immunol. Methods*, **287**, 203-215 (2004).
- 20 McCormick A. A., Reddy S., Reinl S. J., Cameron T. I., Czerwinski D. K., Vojdani F. Plant-produced idiotype vaccines for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: safety and immunogenicity in a phase I clinical study, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 10131-10136 (2008).
- 21 Yusibov V., Rabindran S., Commandeur U., Twyman R. M., Fischer R. The potential of plant virus vectors for vaccine production, *Drugs R. D.*, **7** (4), 203-217 (2006).
- 22 Brennan F. R., Gilleland L. B., Staczek J., Bendig M. M., Hamilton W. D., Gilleland H. E. Jr. A chimaeric plant virus vaccine protects mice against a bacterial infection, *Microbiology*, **145**, 2061-2067 (1999).
- 23 Franconi R., Massa S., Illiano E., Muller A., Cirilli A., Accardi L. Exploiting the plant secretory pathway to improve the anticancer activity of a plant-derived HPV16 E7 vaccine, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **19**, 187-197 (2006).
- 24 Pogue G. P., Lindbo J. A., Garger S. J., Fitzmaurice W. P. Making an ally from an enemy: plant virology and the new agriculture, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **40**, 45-74 (2002).
- 25 Hamilton A. J., Baulcombe D. C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants, *Science*, **286**, 950-952 (1999).
- 26 Kasschau K. D., Carrington J. C. A counterdefensive strategy of plant viruses: suppression of posttranscriptional gene silencing, *Cell.*, **95**, 461-470 (1998).
- 27 Voinnet O., Rivas S., Mestre P., Baulcombe D. An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus, *Plant J.*, **33**, 949-956 (2003).
- 28 Perlak F. J., Fuchs R. L., Dean D. A., McPherson S. L., Fischhoff D. A. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88** (8), 3324-3328 (1991).
- 29 Hamada A., Yamaguchi K. I., Ohnishi N., Harada M., Nikumaru S., Honda H. High-level production of yeast (*Schwanniomyces occidentalis*). phytase in transgenic rice plants by a combination of signal sequence and codon modification of the phytase gene, *Plant Biotechnol. J.*, **3**, 43-55 (1995).
- 30 Rouwendal G. J., Mendes O., Wolbert E. J. H., Boer A. D. Enhanced expression in tobacco of the gene encoding green fluorescent protein by modification of its codon usage, *Plant Mol. Biol.*, **33** (6), 989-999 (1997).
- 31 Kawabe A., Miyashita N. T. Patterns of codon usage bias in three dicot and four monocot plant species, *Genes Genet Syst.*, **78** (5), 343-352 (2005).
- 32 Sullivan M. L., Green P. J. Post-transcriptional regulation of nuclear-encoded genes in higher plants: the roles of mRNA stability and translation, *Plant Mol. Biol.*, **23** (6), 1091-1104 (1993).
- 33 Mishra S., Yadav D. K., Tuli R. Ubiquitin fusion enhances cholera toxin B subunit expression in transgenic plants and the plant-expressed protein binds GM1 receptors more efficiently, *J. Biotechnol.*, **127**, 95-108 (2006).
- 34 Rybicki E. P. Plant-produced vaccines: promise and reality, *Drug Discov. Today*, **14** (1-2), 16-24 (2009).
- 35 Bevan M. W., Flavell R. B., Chilton M. D. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation, *Nature*, **304**, 184-187 (1983).

- 36 Hiatt A., Cafferkey R., Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants, *Nature*, **342**, 76-78 (1989).
- 37 Barta A., Sommengruber K., Thompson D., Hartmuth K., Matzke M. A., Matzke A. J. M. The expression of a napoline synthase human growth hormone chimeric gene in transformed tobacco and sunflower callus tissue, *Plant. Mol. Biol.* **6**, 347-357 (1986).
- 38 Hood E. E., Witcher D. R., Maddock S., Meyer T., Baszczynski C., Bailey M. Commercial production of avidin from transgenic maize: characterization of transformant production, processing, extraction and purification, *Mol. Breed.*, **3**, 291-306 (1997).
- 39 Mason H. S., Warzecha H., Mor T., Arntzen C. J. Edible plant vaccines: applications for prophylactic and therapeutic molecular medicine, *Trends Mol. Med.*, **8**, 324-329 (2002).
- 40 Tiwari S., Verma P. C., Singh P. K., Tuli R. Plants as bioreactors for the production of vaccine antigens, *Biotechnol. Adv.*, **27** (4), 449-467 (2009).
- 41 Horn M. E., Woodard S. L., Howard J. A. Plant molecular farming: systems and products, *Plant Cell Rep.*, **22**, 711-720 (2004).
- 42 Sijmons P. C., Dekker B. M., Schrammeijer B., Verwoerd T. C., van den Elzen P. J., Hoekema A. Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants, *Biotechnology*, **8**, 217-221 (1990).
- 43 Edelbaum O., Stein D., Holland N., Gafni Y., Livneh O., Novick D., Rubinstein M., Sela I. Expression of active human interferon-b in transgenic plants, *J. Interferon Res.*, **12**, 449-453 (1992).
- 44 Kusnadi A. Production of recombinant proteins in transgenic plants: practical considerations, *Biotechnology and Bioengineering*, **56**, 473-484 (1997).
- 45 Nandi S., Yalda D., Lu S., Nikolov Z., Misaki R., Fujiyama K., Huang N. Process development and economic evaluation of recombinant human lactoferrin expressed in rice grain, *Transgenic Res.*, **4** (3), 237-249 (2005).

Сведения об авторах

Жангазин С.Б. – PhD, Биотехнология және микробиология кафедрасының аға оқытушысы, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразиялық ұлттық университеті, Қ. Мұнайтпасов көш. 13, Астана, Қазақстан.

Уалиева Р.М. – PhD, Биология және экология кафедрасының аға оқытушысы, С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті, Ломов көш. 64, Павлодар, Қазақстан

Zhangazin S.B. – PhD, Senior Teaching Assistant of the Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, K. Munaytpasova st., 13, Astana, Kazakhstan.

Ualiyeva R.M. – PhD, Senior Teaching Assistant of the Department of Biology and Ecology, S. Toraigyrov Pavlodar State University, Lomova str., 64, Pavlodar, Kazakhstan.

Поступила в редакцию 27.12.2018

«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, Астана қаласы, Қ. Сәтпаев көшесі, 2, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Бас гимарат, 408 кабинет) және *eurjournal@enu.kz* электрондық поштасына PDF, Тех форматтарындағы нұсқаларын жіберу қажет. Мақаланың мәтінінің қағаз нұсқасы мен электронды нұсқалары бірдей болулары қажет. Мақалалар қазақ, орыс, ағылшын тілдерінде қабылданады. Мақаланың тех форматындағы 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 университетінің хабаршысында басуға келісін, шетел тіліне аударылып қайта басылуына келісін 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

ГТАМРК <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

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

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

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

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

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

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

Әдебиеттер тізімі

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

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

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

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

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

8. Төлемақы. Басылымға рұқсат етілген мақала авторларына төлем жасау туралы ескертіледі. Төлем көлемі 2018 жылы 4500 тенге – ЕҰУ қызметкерлері үшін және 5500 тенге басқа ұйым қызметкерлеріне.

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

АО "Банк ЦентрКредит"

БИК Банка: КСJBKZKX

ИИК: KZ978562203105747338 (KZT)

Кпп 861

Кбе 16

"Мақала үшін (автордың аты-жөні)"

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

БИК Банка: KINCKZKA

ИИК: KZ498210439858161073 (KZT)

"Мақала үшін (автордың аты-жөні)"

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

БИК Банка: IRTYKZKA

ИИК: KZ599650000040502847 (KZT)

"Мақала үшін (автордың аты-жөні)"

**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, Astana, Satpayev St., 2. L.N. Gumilyov Eurasian National University, Main Building, room 408) 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 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.Астана, ул. Сатпаева, 2, Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Учебно-административный корпус, каб. 408) 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. Автор А также автору(ам) необходимо предоставить сопроводительное письмо.

Язык публикаций: казахский, русский, английский.

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

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

5. Схема построения статьи

ГРНТИ <http://grnti.ru/>

Инициалы и Фамилию автора(ов)

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

E-mail автора(ов)

Название статьи

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

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

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

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

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

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

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

Список литературы

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

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

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

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

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

Периодичность журнала: 4 раза в год.

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

Мақаланы рәсімдеу үлгісі

IRSTI 27.25.19

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

¹ *L.N.Gumilyov Eurasian National University, 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 rationale of the investigation and its relation to other works in the same scope.

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

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

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

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

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

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

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

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

Tables

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

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 Кусайнова 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, Астана, Қазақстан

² Испаниялық ұлттық зерттеу институты, Гранада, Испания

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

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

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

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

Г.С. Мукиянова¹, 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 p41 вируса tomato bushy stunt virus (tbsv) активизирует резистентность у растений вида solanum lycopersicum

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

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

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:

Мукиянова Г.С.- PhD студент, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

Ақбасова А.Ж.- Аға оқытушы, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, 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, Астана, Қазақстан.

Mukiyanova G.S.- PhD student, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Akbassova A.Zh - Senior tutor, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Maria J. Pozo- Tenured scientist, Estacion Experimental del Zaidon (CSIC), Granada, Spain.

Omarov R.T.- Head od department, L.N.Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

Received 27.12.2018

Редакторы: Р.І. Берсімбай

Шығарушы редактор, дизайн: А. Нұрболат

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің
Хабаршысы. Биологиялық ғылымдар сериясы.
- 2018. 4(125) - Астана: ЕҰУ. 67-б.
Шартты б.т. - 8,86. Таралымы - 25 дана.

Мазмұнына типография жауап бермейді

Редакция мекен-жайы: 010008, Қазақстан Республикасы Астана қ.,
Сәтпаев 2, көшесі, 13.

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