

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің

ХАБАРШЫСЫ

BULLETIN

of L.N. Gumilyov
Eurasian National University

ВЕСТНИК

Евразийского национального
университета имени Л.Н. Гумилева

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы

BIOSCIENCE Series

Серия БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

№2 (155)/ 2026

2010 жылдан бастап шығады

Founded in 2010

Издается с 2010 года

Жылына 4 рет шығады

Published 4 times a year

Выходит 4 раза в год

Астана, 2026
Astana, 2026

Бас редактор:
Р.І. Берсімбаев,
ҚР ҰҒА академигі, б.ғ.д, проф., Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ,
Астана, Қазақстан

Бас редактордың орынбасары **Ж.К. Масалимов,** *б.ғ.к., доцент, Л.Н.Гумилев атындағы ЕҰУ,*
Астана, Қазақстан

Редакция алқасы:

Акильжанова А.Р.	м.ғ.д., PhD, Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Аликулов З.А.	б.ғ.к., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Аскарова Ш.Н.	б.ғ.к., PhD, Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Ау У.	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Бисенбаев А.К.	б.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі, Өл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы (Қазақстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшава жаратылыстану ғылымдары университеті, Варшава (Польша)
Изотти А.	PhD, проф., Генуя университеті, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	м.ғ.д., проф., Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Коломиец М.	PhD, проф., Техас университеті, Техас (АҚШ)
Константинов Ю.М.	б.ғ.д., проф., Иркутск мемлекеттік университеті, Иркутск (Ресей)
Курманбаева А.Б.	PhD, оқытушы-зерттеуші, Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ, Астана (Қазақстан)
Позо М.Х.	PhD, Испания ұлттық зерттеу кеңесінің Zaidin тәжірибелік станциясы, Гранада (Испания)
Рубцов Н.	б.ғ.д., проф., Цитология және генетика институты, Новосібір (Ресей)
Саги М.	PhD, проф., Бен Гурион атындағы Негев университеті, Беэр-Шева (Израиль)
Сарбасов Д.Д.	PhD, проф., Назарбаев университеті, Астана (Қазақстан)
Тарлыков П.В.	PhD, зертхана меңгерушісі, Ұлттық биотехнология орталығы, Астана (Қазақстан)
Халилов Р.И.	ф.-м.ғ.д., Баку мемлекеттік университеті, Баку (Әзірбайжан)

Редакцияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Астана қ., Қажымұқан к-сі, 13,
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті
E-mail: eurjourbio@enu.kz

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы. БИОЛОГИЯЛЫҚ ҒЫЛЫМДАР сериясы
Меншіктенуші: КеАҚ "Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті"
Мерзімділігі: жылына 4 рет
Қазақстан Республикасының Ақпарат және коммуникациялар министрлігімен тіркелген
02.02.2021ж. № KZ11VPY00031938 қайта есепке қою туралы куәлігі
Типографияның мекенжайы: 010008, Қазақстан, Астана қ., Қажымұқан к-сі 13
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті
Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

Editor-in-Chief:

R.I. Bersimbaev,

*Academician of NAS RK, Doctor of Biological Sciences, Prof.,
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan*

Deputy Editor-in-Chief:

Zh.K. Masalimov, *Candidate of Biological Sciences, Associate professor,
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan*

Editorial board

Akilzhanova A.R.	Doctor of Medical Sciences, PhD, Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan)
Alikulov Z.A.	Prof., Can. of Biological Sciences, L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)
Askarova Sh.N.	PhD, Can. of Biological Sciences, Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan)
Au W.	PhD, Prof., University of Texas, Texas (USA)
Bisenbayev A.K.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Academician of NAS RK, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty (Kazakhstan)
Zdunek-Zastocka E.	PhD, Prof, Warsaw University of Life Sciences, Warsaw (Poland)
Izzotti A.	PhD, Prof., University of Genoa, Genoa (Italy)
Ilderbayev O.Z.	Doctor of Medical Sciences, Prof., L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)
Kolomiec M.	PhD, Prof., University of Texas, Texas (USA)
Konstantinov Yu.M.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Irkutsk State University, Irkutsk (Russia)
Kurmanbayeva A.B.	PhD, teacher-researcher, L.N. Gumilyov ENU, Astana (Kazakhstan)
Pozo M.J.	PhD, Zaidin Experimental Station of the Spanish National Research Council, Granada (Spain)
Rubtsov N.	Doctor of Biological Sciences, Prof., Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia)
Sagi M.	PhD, Prof., Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva (Israel)
Sarbassov D.D.	PhD, Prof., Nazarbayev University, Astana (Kazakhstan)
Tarlykov P.V.	PhD, Head of the Laboratory, National Center for Biotechnology, Astana (Kazakhstan)
Khalilov R.I.	Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Baku State University, Baku (Azerbaijan)

Editorial address: **13 Kazhymukan str., of., L.N. Gumilyov Eurasian National University,
Astana, Kazakhstan, 010008**
E-mail: **eurjourbio@enu.kz**

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

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

Periodicity: 4 times a year

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

№ KZ11VPY00031938 from 02.02.2021

Address of Printing Office: 13 Kazhymukan str., L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan 010008

Website: <http://bulbio.enu.kz>

Главный редактор:
Р.И. Берсимбай,
профессор, д.б.н., академик НАН РК, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Зам. главного редактора **Ж.К. Масалимов,** к.б.н., доцент, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева,
Астана, Казахстан

Редакционная коллегия:

Акильжанова А.Р.	д.м.н., PhD, Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Аликулов З.А.	к.б.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Аскарова Ш.Н.	к.б.н., PhD, Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Ау У.	PhD, проф., Техасский университет, Техас (США)
Бисенбаев А.К.	д.б.н., проф., академик НАН РК, КазНУ имени аль-Фараби, Алматы (Казахстан)
Здунек-Застока Э.	PhD, проф., Варшавский университет естественных наук, Варшава (Польша)
Изотти А.	PhD, проф., Университет Генуя, Генуя (Италия)
Ильдербаев О.З.	д.м.н., проф., ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Коломиец М.	PhD, профессор, Техасский университет, Техас (США)
Константинов Ю.М.	д.б.н., проф., Иркутский государственный университет, Иркутск (Россия)
Курманбаева А.Б.	PhD, преподаватель-исследователь, ЕНУ имени Л.Н. Гумилева, Астана (Казахстан)
Позо М.Х.	PhD, Экспериментальная станция Zaidin Испанского национального исследовательского совета, Гранада (Испания)
Рубцов Н.	д.б.н., профессор, Институт цитологии и генетики, Новосибирск (Россия)
Саги М.	PhD, профессор, Университет имени Бен-Гуриона в Негеве, Беэр-Шева (Израиль)
Сарбасов Д.Д.	PhD, профессор, Назарбаев Университет, Астана (Казахстан)
Тарлыков П.В.	PhD, заведующий лабораторией, Национальный центр биотехнологии, Астана (Казахстан)
Халилов Р.И.	д.ф.-м.н., Бакинский государственный университет, Баку (Азербайджан)

Адрес редакции: **010008, Казахстан, г. Астана, ул. Кажымукан, 13,**
Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева
E-mail: eurjourbio@enu.kz

Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия **БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**
Собственник: НАО «Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева»
Периодичность: 4 раза в год
Зарегистрирован Министерством информации и коммуникаций Республики Казахстан Свидетельство о постановке на переучет № KZ11VPY00031938 от 02.02.2021 г.
Адрес типографии: 010008, Казахстан, г. Астана, ул. Кажымукана, 13
Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева
Сайт: <http://bulbio.enu.kz>

© Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

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

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

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

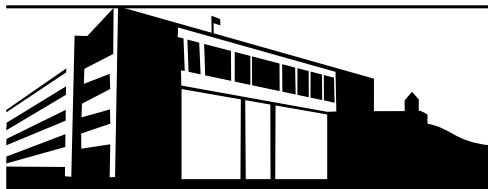
№2 (155)/2026

МАЗМҰНЫ/ CONTENT/ СОДЕРЖАНИЕ

Р.С. Уахит, А.М. Смагулова, А.С. Абаш, В.С. Киян, К.А. Дюсембаев Қазақстанның Ақмола облысындағы ноқат тұқымдарындағы <i>Aspergillus</i> сақтау саңырауқұлақтарының молекулалық идентификациясы және әртүрлілігі	
R.S. Uakhit, A.M. Smagulova, A.S. Abash, V.S. Kiyan, K.A. Dyusseimbayev Molecular identification and diversity of <i>Aspergillus</i> storage fungi in chickpea seeds from the Akmola region, Kazakhstan	
Р.С. Уахит, А.М. Смагулова, А.С. Абаш, В.С. Киян, К.А. Дюсембаев Молекулярная идентификация и разнообразие грибов хранения <i>Aspergillus</i> в семенах нута в Акмолинской области Казахстана.....	8
Ұ.Ө. Зейн, Б.Ш.Якупов, С.А.Тимошук, А.М. Тургимбаева, Р. И.Берсимбай, С.К.Абельденов <i>Mycobacterium tuberculosis</i> алынған NucS эндонуклеазасының биохимиялық және функционалдық сипаттамасы	
U.O. Zein, B.S. Yakupov, S.A. Timoshchuk, A.M. Turgimbayeva, R.I. Bersimbay, S.K. Abeldenov Biochemical and functional characterization of NucS endonuclease from <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
Ұ.Ө. Зейн, Б.Ш.Якупов, С.А.Тимошук, А.М.Тургимбаева, Р. И. Берсимбай, С.К. Абельденов Биохимическая и функциональная характеристика эндонуклеазы NucS из <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
Р.М. Уалиева, А.В. Осипова, М.М. Каверина, М.Ә. Жақсыбек, С.Б. Жангазин Машиналық оқыту әдістері негізінде арпаның тозаңды қаракүйесін дамудың әртүрлі кезеңдерінде анықтауда гиперспектральды визуализацияның қолданылуын зерттеу.....	
R.M. Ualiyeva, A.V. Osipova, M.M. Kaverina, M.A. Zhaksybek, S.B. Zhangazin Study on the application of hyperspectral imaging for identifying barley loose smut at different stages of development using machine learning methods	
Р.М. Уалиева, А.В. Осипова, М.М. Каверина, М.Ә. Жақсыбек, С.Б. Жангазин Изучение применения гиперспектральной визуализации для идентификации пыльной головни ячменя на разных стадиях развития с использованием методов машинного обучения.....	38
Т.Е. Дарбаева, Б.С. Альжанова, Г.С.Кайсағалиева, А.Н. Сарсенова, С.Н. Бохорова Шалқар көлі маңының бетегелі-селеулі далаларының сирек кездесетін қауымдастықтары	
T.E. Darbayeva, B.S.Alzhanova, G.S. Kaysagalieva, A.N. Sarsenova, S.N. Bokhorova Rare communities of tipchak-kovyl steppes in the vicinity of Lake Shalkar	
Т.Е. Дарбаева, Б.С. Альжанова, Кайсағалиева Г.С., А.Н. Сарсенова, С.Н. Бохорова Редкие сообщества типчаково-ковыльных степей окрестностей озера Шалкар	57

У. Б. Сарсенбаева, А.А. Құнанбаева, А.А. Алмасбекова, К.О. Шарипов, М.К. Сапарбаев, С.М. Тайпақова Escherichia coli жүйесінде рекомбинантты MUTYH белогының тиімді экспрессиясы мен тазартылуы	
U.B. Sarsenbayeva, A.A. Kunanbayeva, A.A. Almasbekova, K.O. Sharipov, M.K. Saparbayev, S.M. Taipakova Efficient expression and purification of recombinant MUTYH protein in Escherichia coli	
У. Б. Сарсенбаев, А.А. Құнанбаева, А.А. Алмасбекова, К.О. Шарипов, М.К. Сапарбаев, С.М. Тайпакова Эффективная экспрессия и очистка рекомбинантного белка MUTYH в Escherichia coli	75
Э.Н. Дюсибаева, А.Б. Рысбекова, М.М. Абылкаирова, А.Е. Зейнуллина, Н.А. Сарбасова, А.Е. Оразов, Г.Т. Есенбекова Диэтилсульфат индукциясының тары өсімдіктерінің М1 сандық сипаттамаларына әсері	
E.N. Dyussibayeva, A.B. Rysbekova, M. M. Abylkairova, A.E. Zeinullina, N.A. Sarbassova, A.E. Orazov, G.T. Yessenbekova Effects of Diethyl Sulfate Induction on Quantitative Characteristics of M1 Millet Plants.....	
Э.Н. Дюсибаева, А.Б. Рысбекова, М.М. Абылкаирова, А.Е. Зейнуллина, Н.А. Сарбасова, А.Е. Оразов, Г.Т. Есенбекова Влияние индуцированного мутагенеза диэтилсульфатом на количественные признаки растений проса поколения М1.....	91
Д.Түсіпқан, В.А.Шевцов, М.Б.Рамазанова, А.Өркен, А.Б.Шевцов, Ш.А.Манабаева Қазақстанда кездесетін эндемик Кауфман қызғалдағының (Tulipa kaufmanniana) хлоропласт геномына құрылымдық талдау	
D. Tussipkan, V.A. Shevtsov, M.B. Ramazanova, A. Orken, A.B. Shevtsov, Sh.A. Manabayeva Structural analysis of the chloroplast genome of the Kazakhstan endemic Kaufmann's tulip (Tulipa kaufmanniana)	
Д.Түсіпқан, В.А.Шевцов, М.Б.Рамазанова, А.Өркен, А.Б.Шевцов, Ш.А.Манабаева Структурный анализ хлоропластного генома эндемичного для Казахстана тюльпана Кауфмана (Tulipa kaufmanniana)	111
Ж. Азирахмет, О. Щепин, М. Шниттлер, Г. Айнагулова, Р. Берсимбай Катонқарағай және Іле-Алатауы мемлекеттік ұлттық табиғи парктөрі аумақтарындағы Physaraceae тұқымдасына жататын нивальды миксомицеттердің морфологиялық белгілеріне салыстырмалы талдау	
Z. Azirakhmet, O. Shchepin, M. Schnittler, G. Ainagulova, R. Bersimbay Comparative analysis of morphological characters of nivicolous myxomycetes of the family Physaraceae in Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks	
Ж. Азирахмет, О. Щепин, М. Шниттлер, Г. Айнагулова, Р. Берсимбай Сравнительный анализ морфологических признаков нивальных миксомицетов семейства Physaraceae на территориях Катон-Карагайского и Иле-Алатауского государственных национальных природных парков	134

А. А. Утебаева , Е. А. Габрилянц, Ж. Ә. Әбіш , Ә. Ә. Әбләш Түйе сүтінен жасалған ірімшік-тен автохтонды сүтқышқылды бактерияларды бөліп алу және оларды арнайы ашытқы дақылдарын әзірлеуде қолдану мүмкіндіктерін сипаттау A. A. Utebaeva , E. A. Gabrilyants , Zh. A. Abish , A. A. Ablash Isolation and characterization of autochthonous lactic acid bacteria from camel milk cheese for starter culture development А. А. Утебаева , Е. А. Габрилянц, Ж. А. Абиш , А. А. Аблаш Выделение и характеристика автохтонных молочнокислых бактерий из сыра из верблюжьего молока для разработки заквасочных культур	149
А.А. Шәріп, С.А. Абиев, Г.Т. Ситпаева, Б.Б. Осмонали Ұлытау облысындағы дәрілік өсімдіктердің скринингі және олардың жалпы сипаттамалары A.A. Sharip, S.A. Abiyev, G.T. Sitpayeva, B.B. Osmonali Screening of medicinal plants in the Ulytau region and their general characteristics А.А. Шәріп, С.А. Абиев, Г.Т. Ситпаева, Б.Б. Осмонали Скрининг лекарственных растений в Улытауской области и их общие характеристики	163
В.А. Жиденко, И.Н. Аникина, А. Ибраева Картоп сорттарының in vitro жағдайындағы морфогенезінің салыстырмалы сипаттамасы V.A. Zhidenko, I.N. Anikina, A. Ibraeva Comparative characteristics of morphogenesis in potato varieties under in vitro conditions В.А. Жиденко, И.Н. Аникина, А. Ибраева Сравнительная характеристика морфогенеза сортов картофеля в условиях in vitro	176
Г.Е. Марденова, П.А. Есенбекова, М.Б. Жаксыбаев, Г.Д. Анарбекова Батыс Тянь-Шань қандалаларын (Cimicomorpha, Heteroptera) зоогеографиялық талдау G.E. Mardenova, P.A. Esenbekova, M.B. Zhaksybayev, G.D. Anarbekova The zoogeographical analysis of true bugs (Cimicomorpha, Heteroptera) of the Western Tien Shan Г.Е. Марденова, П.А. Есенбекова, М.Б. Жаксыбаев, Г.Д. Анарбекова Зоогеографический анализ клопов (Cimicomorpha, Heteroptera) Западного Тянь-Шаня.....	191



IRSTI 34.31.35
Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-8-18>

Molecular identification and diversity of *Aspergillus* storage fungi in chickpea seeds from the Akmola region, Kazakhstan

R.S. Uakhit¹ , A.M. Smagulova² , A.S. Abash³ ,
V.S. Kiyan⁴ , K.A. Dyussembayev^{*5}

^{1,2,4,5}Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center of Biotechnology, Astana, Kazakhstan

³Higher School of Natural Sciences, Astana International University, Astana, Kazakhstan

⁵Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

E-mail: ¹erken.uakhitrabiga@gmail.com, ²smagulova0114@gmail.com,
³altin_jan82@mail.ru, ⁴vskiy@gmail.com, ^{*5}dyussembayev@biocenter.kz

Abstract. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is a vital legume whose post-harvest quality is frequently compromised by opportunistic storage fungi, posing both economic losses and potential health risks due to mycotoxin contamination. Despite its agricultural importance, information regarding storage fungi affecting chickpea seeds in Kazakhstan remains limited. This study aimed to isolate and identify *Aspergillus* species contaminating chickpea seeds cultivated in the Akmola region. Over 200 seed samples representing local agricultural production were evaluated. Initial microbiological analysis and microscopic examination were followed by accurate molecular identification through the amplification sequencing of the internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal DNA. Phylogenetic analysis of the obtained sequences confirmed the presence of two distinct species: *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*. The isolation of these ubiquitous saprophytes indicates significant post-harvest fungal proliferation, likely exacerbated by local climatic factors and storage microclimates. These findings highlight a critical vulnerability in regional post-harvest infrastructure and underscore the necessity for rigorous phytosanitary monitoring. Implementing improved, sustainable storage management strategies is essential to mitigate fungal contamination and ensure the safety of local agricultural commodities.

Keywords: *Cicer arietinum*, storage fungi, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, ITS rDNA, phytosanitary monitoring, post-harvest quality

Introduction

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is one of the most important grain legumes cultivated worldwide and represents a major source of plant protein for human nutrition [1]. The crop is widely grown in semi-arid and temperate regions of Asia, the Middle East, and Africa, and is increasingly grown in Europe and Central Asia [2]. By fixing atmospheric nitrogen and offering high nutritional value, chickpea is integral to sustainable agricultural systems and soil fertility management. [3]. However, the productivity of chickpea is strongly constrained by numerous fungal diseases affecting plants at different developmental stages [4-6].

Aspergillus spp. are ubiquitous filamentous fungi widely distributed in soil, air, and plant debris [5-7]. Numerous *Aspergillus* species opportunistically colonize agricultural commodities, particularly when elevated temperature and humidity during storage promote fungal proliferation. In chickpea seeds, *Aspergillus* species can develop under inadequate storage conditions, such as high moisture content, poor ventilation, or prolonged storage periods [8]. These fungi can rapidly colonize seed surfaces and internal tissues, leading to deterioration of seed quality, reduced germination capacity, and potential loss of market value [9].

In addition to causing economic losses, contamination of food products by *Aspergillus* spp. represents a potential risk to human health [10-14]. Some species in this genus produce mycotoxins, including aflatoxins and ochratoxins, which can accumulate in contaminated food products. Furthermore, *Aspergillus* spores and fungal metabolites may trigger allergic reactions in susceptible individuals. Exposure to fungal spores through inhalation or consumption of contaminated food may lead to hypersensitivity reactions, respiratory symptoms, or other allergic manifestations. These effects are associated with the presence of allergenic proteins and secondary metabolites produced by certain *Aspergillus* species [15].

Because chickpea seeds are widely consumed and often stored for extended periods before processing or consumption, monitoring for fungal contamination is essential to ensure food safety and quality [16]. The identification of *Aspergillus* species associated with stored chickpea seeds is therefore important for understanding the sources of contamination and assessing potential risks for consumers [17]. Traditional morphological identification of fungi may be limited by similarities among species; therefore, molecular methods, such as PCR amplification and sequencing of ribosomal DNA regions, provide a reliable approach to accurate species identification [18].

Despite the importance of chickpea production in many regions, information regarding the occurrence and molecular identification of storage fungi associated with chickpea seeds remains limited in several countries, including Kazakhstan. Therefore, studying the diversity of *Aspergillus* species contaminating chickpea seeds is necessary to improve phytosanitary monitoring and to support the development of effective storage management strategies aimed at reducing fungal contamination and associated health risks [19, 20].

Materials and methods

Sample collection

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed samples were collected from agricultural fields located in the Akmola region of Kazakhstan. The samples were provided by the A.I. Baraev Scientific Production Center for Grain Farming (Shortandy, Kazakhstan). In total, more than 200 chickpea seed samples were examined during the study period. Seeds were collected from different batches representing local agricultural production. All samples were placed in sterile containers, labeled, and transported to the laboratory for further mycological analysis.

Prior to microbiological analysis, seeds underwent visual inspection to detect overt fungal contamination and morphological anomalies. Individual seeds from each sample were selected randomly for further microscopic and molecular investigations.

Microbiological analysis and microscopic examination

Chickpea seeds were subjected to microbiological analysis to isolate fungal contaminants. Individual seeds were placed on Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA) medium and incubated at 25 ± 2 °C for 5–7 days. Emerging fungal colonies were monitored daily, and colonies with morphological characteristics were selected for further examination.

For microscopic analysis, small fragments of fungal colonies were transferred onto microscope slides in a drop of sterile distilled water and covered with a coverslip. Microscopic observations were performed using a Zeiss Axio Scope light microscope (Carl Zeiss, Germany).

DNA extraction and PCR amplification

Genomic DNA was extracted from fungal mycelium of *Aspergillus* spp. grown on potato dextrose agar (PDA). A small fragment of fungal mycelium (approximately 0.5×0.5 cm) was transferred from the culture plate into a sterile mortar. Then, 300 µL of extraction buffer containing 2 M Tris-HCl (pH 8.0), 0.5 M EDTA, NaCl (3.27 g), and CTAB (0.8 g) was added together with Proteinase K. The mixture was thoroughly homogenized and incubated at 65 °C for 14–16 h. Genomic DNA was subsequently extracted using the standard phenol–chloroform purification method [21]. The quality and concentration of the isolated DNA were determined using a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA).

For molecular identification of *Aspergillus* spp., the internal transcribed spacer (*ITS*) region of ribosomal DNA was amplified using the universal fungal primers (*ITS1* F: TCCGTAGGTGAACCTGCGG, *ITS4* R: TCCTCCGCTTATTGATATGC) [22]. PCR reactions were performed in a total volume of 25 µL containing template DNA (50 ng/µL), PCR Mastermix 2x (Biolabmix, Russia) 12.5 µL, and nuclease-free water 8 µL. PCR amplification was carried out in a thermal cycler under the following conditions: initial denaturation at 95 °C for 5 min; followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s, primer annealing at 55 °C for 30 s, and extension at 72 °C for 1 min; with a final extension step at 72 °C for 7 min. Amplified PCR products were separated by electrophoresis in 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide and visualized under UV illumination.

DNA sequencing and sequence analysis

Successful PCR products were purified and subjected to Sanger sequencing. The obtained nucleotide sequences were edited and assembled using BioEdit software version 7.0.5. Sequence quality was manually inspected and trimmed where necessary. Species identification was performed by comparing the obtained sequences with reference sequences available in the NCBI GenBank database using the BLASTn algorithm. Identification of fungal isolates was based on the highest sequence similarity with previously deposited sequences of *Aspergillus* spp.

Phylogenetic analysis

To confirm the taxonomic placement of the obtained isolates, phylogenetic analysis was conducted. Multiple sequence alignment of *ITS* sequences was performed using the ClustalW algorithm implemented in MEGA version 11 software. Reference sequences of related *Aspergillus* species retrieved from GenBank were included in the analysis. A phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood method to infer evolutionary relationships among the studied isolates and reference sequences [23]. The reliability of the phylogenetic tree topology was assessed by bootstrap analysis with 1000 replicates.

Results

Microbiological analysis of chickpea seeds resulted in the isolation of fungal colonies belonging to the genus *Aspergillus*. Fungal growth was observed on potato dextrose agar (PDA) after 5–7 days of incubation. Initial morphological and microscopic characterization tentatively placed the isolates within the genus *Aspergillus*. Subsequent molecular identification using ITS rDNA sequencing confirmed the presence of two species, *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*, among the isolates obtained from chickpea seeds. The morphological characteristics of the colonies and microscopic structures of the identified species are presented in Figure 1, while the phylogenetic relationships inferred from ITS sequences are shown in Figure 2.

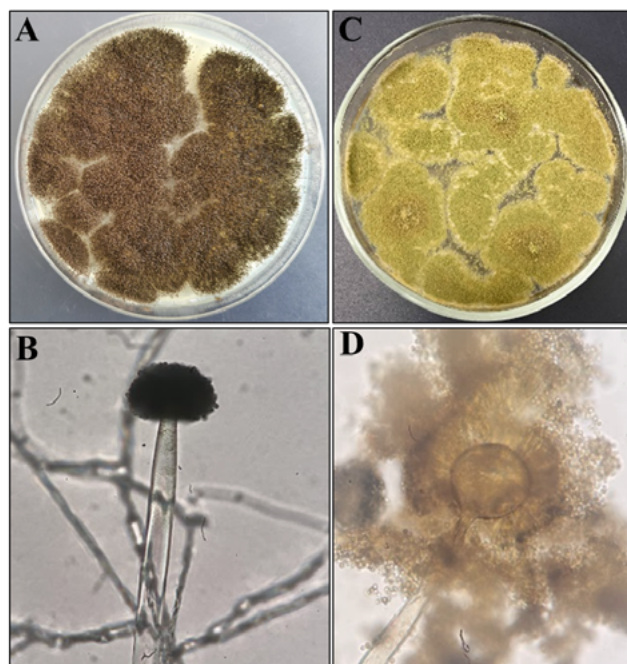


Figure 1. Cultural morphological characteristics of *Aspergillus niger* 1A and 1B; *Aspergillus fumigatus* 1C and 1D

Aspergillus niger colonies (Figure 1A and 1B) on PDA are characterized by rapid growth and intense sporulation. Initially, the mycelium is whitish, but as conidia form, the colony surface becomes dark brown or black. The colonies are dense, velvety-powdery, with a distinct radial structure and jagged edges. The colony diameter rapidly increases and can occupy a significant portion of the Petri dish. The colony reverse is usually light, yellowish-beige, or almost colorless.

Microscopic examination reveals a well-developed, septate, hyaline mycelium. The conidiophores are long, smooth, and colorless, ending in a spherical vesicle. The vesicle is completely covered with metulae and phialides, forming a radial structure. The phialides produce long chains of darkly pigmented conidia, giving the conidial head its characteristic black color. The conidia are spherical, rough-surfaced, and collected in dense radial heads.

Aspergillus fumigatus (Figure 1C and 1D) colonies on PDA medium are characterized by rapid growth and a velvety surface. Young colonies are initially whitish, later acquiring a charac-

teristic gray-green or olive-green color as conidia form. The colony surface is dense, sometimes slightly folded, with jagged or slightly serrated edges. Colonies may form isolated areas of intense sporulation. The colony reverse is usually pale yellow or cream.

Microscopic examination reveals thin, septate mycelium and smooth conidiophores extending from the substrate mycelium. A club-shaped or slightly rounded vesicle form at the apex of the conidiophores. The phialides are arranged in a single row (uniseriate) and cover only the upper portion of the vesicle. The conidial chains form a compact columnar head. The conidia are small, round, smooth or slightly rough, form long chains, and give the colonies their characteristic green color.

The phylogenetic tree included the *ITS* sequences obtained in this study together with reference sequences of *Aspergillus* species retrieved from the GenBank database.



Figure 2. Maximum likelihood phylogenetic analysis of *Aspergillus* species based on *ITS* gene among the studied isolates and reference sequences

In the phylogenetic tree, isolates obtained in the present study are indicated by red circles and bold text. One isolate (PZ097651) clustered with reference sequences of *A. fumigatus* (PX232454, MN588001, MZ452428, and KX090299), forming a clade corresponding to this species. Another isolate (PZ097652) grouped with reference sequences of *A. niger* (KX664345 and PX658551), confirming its placement within the *A. niger* lineage.

Bootstrap values indicated moderate to strong support for several nodes within the tree. To root the phylogenetic tree, *Cordyceps ningxiaensis* (KF309668) was used as an outgroup and

is indicated by a blue triangle in the figure. The resulting topology clearly separated the analyzed isolates into distinct clades corresponding to recognized *Aspergillus* species.

Discussion

The phylogenetic analysis based on the *ITS1* region confirmed that the fungal isolates obtained from chickpea seeds belong to the species *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. Both species are widely distributed saprophytic fungi commonly associated with stored agricultural products and are frequently reported as storage contaminants of grains and legumes [24, 25].

Species of the genus *Aspergillus* are well known for their ability to colonize seeds during post-harvest storage, particularly under conditions of elevated humidity and temperature [26]. Consequently, the isolation of *A. niger* and *A. fumigatus* from chickpea seeds indicates post-harvest fungal proliferation rather than active field infection. Similar findings have been reported in previous studies investigating fungal contamination of stored legumes and cereal grains [27, 28].

The detection of these species in chickpea seeds is also important from a food safety perspective. Several *Aspergillus* species are known to produce allergenic spores and secondary metabolites that may affect human health [29]. Consumption or inhalation of fungal spores may trigger allergic reactions or respiratory symptoms in susceptible individuals [30]. Beyond direct health implications, the contamination of chickpea batches by potential mycotoxin-producing *Aspergillus* strains represents a significant economic barrier.

As chickpea cultivation expands in Central Asia to meet growing global demand for plant-based proteins, adherence to strict international phytosanitary frameworks – such as the stringent mycotoxin limits enforced by the European Union – becomes paramount. Consequently, the identification of these specific storage pathogens is not merely a localized quality control issue, but a fundamental step in ensuring the export viability of regional agricultural commodities. Therefore, rigorous molecular monitoring of *Aspergillus* species in stored legumes is essential for maintaining food safety and mitigating health risks. Moving forward, addressing this contamination requires a shift toward integrated, agroecological storage management. Rather than relying on chemical fungicidal treatments, which may compromise organic certification and consumer safety, strategies should prioritize holistic environmental control. Implementing advanced moisture monitoring, optimizing natural aeration systems to disrupt condensation cycles, and exploring the application of bio-based fungal inhibitors or antagonistic microbial agents offer promising, sustainable pathways to enhance the resilience and safety of stored chickpea crops.

Conclusion

This study successfully utilized ITS rDNA sequencing to identify *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* as prominent storage contaminants in chickpea seeds cultivated in the Akmola region of Kazakhstan. The isolation of these opportunistic saprophytes underscores a critical vulnerability in current post-harvest storage conditions, where fungal proliferation threatens the economic and export viability of the crop while posing significant health risks due to potential allergenic and mycotoxigenic contamination. To ensure the safety and quality of these vital agricultural commodities, it is imperative to implement rigorous molecular phytosanitary monitoring. Ultimately, mitigating these post-harvest losses requires a paradigm shift away from conventional chemical treatments and toward integrated, agroecological storage management. Future strategies must emphasize the adoption of sustainable agricultural technologies, such as

utilizing bio-based fungal inhibitors and optimizing natural environmental controls, to sustainably enhance crop resilience and ensure food safety.

Author Contributions

K.D., R.U., V.K., A.S. - Conception and design; K.D., R.U., A.S. - Collection and assembly of data; K.D., R.U., A.S. - Data analysis and interpretation; K.D., R.U. - Manuscript writing; K.D., V.K. - Final approval of manuscript.

Funding

This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No AP22787291).

Conflicts of Interest

All authors have no conflict of interest to declare.

Compliance with ethical standards

The authors are accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

References

1. Sharma KK, Bhatnagar-Mathur P, Jayanand B. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Methods Mol Biol*, 2006, 343:313–323. <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:313>
2. Thakur R, Sharma S, Devi R et al. Exploring the molecular basis of resistance to *Botrytis cinerea* in chickpea genotypes through biochemical and morphological markers. *PeerJ*. 2023, 11, e15560. <https://doi.org/10.7717/peerj.15560>
3. Thakur R, Devi R, Lal MK et al. Morphological, ultrastructural and molecular variations in susceptible and resistant genotypes of chickpea infected with *Botrytis grey mould*. *PeerJ*, 2023, 11, e15134. <https://doi.org/10.7717/peerj.15134>
4. Zhang J, Wang J, Zhu C et al. Chickpea: Its Origin, Distribution, Nutrition, Benefits, Breeding, and Symbiotic Relationship with *Mesorhizobium* Species. *Plants*, 2024,13(3):429. doi:10.3390/plants13030429
5. Merga B, & Haji J. Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. *Agriculture*, 2019, 5(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1615718>
6. Quaglia M, Tini F, Bajrami E et al. Occurrence of *Aspergillus* and *Penicillium* Species, Accumulation of Fungal Secondary Metabolites, and qPCR Detection of Potential Aflatoxigenic *Aspergillus* Species in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds from Different Farming Systems. *Foods*, 2025, 14(15), 2610. <https://doi.org/10.3390/foods14152610>
7. Sharma AK, Kumar A & Rijal R. Phylogenetic studies and distinction of aflatoxin-producing *Aspergillus* species in section *Flavi*, *Ochraceorosei* and *Nidulantes*: A review. *Gene*, 2025, 937, 149151. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.149151>
8. Ramirez ML, Candoya E, Nichea MJ et al. Impact of toxigenic fungi and mycotoxins in chickpea: A review. *Curr Opin Food Sci*, 2018, 23:32–37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.003>
9. Shamsi S & Khatun A. Prevalence of fungi in different varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds in storage. *J Bangladesh Acad Sci*, 2016, 40:37–44. <https://doi.org/10.3329/jbas.v40i1.28323>

10. Cota-Barreras CI, García-Estrada RS, León-Félix J et al. Phylogeny, distribution, and pathogenicity of fusarioid fungi associated with chickpea wilt in Sinaloa and Sonora, Mexico. *Trop Plant Pathol*, 2024, 49, 622–632. <https://doi.org/10.1007/s40858-024-00663-3>
11. Alemayehu S, Abera FA, Aymut KM et al. Fungal infection and mycotoxins contamination on farm-stored chickpea in major producing districts of Ethiopia. *J Biomed Res Environ Sci*, 2023, 4:413–425. <https://doi.org/10.37871/jbres1690>
12. Romero Donato CJ, Nichea MJ, Cendoya E et al. Interacting abiotic factors affect growth and mycotoxin production profiles of *Alternaria* section *Alternaria* strains on chickpea-based media. *Pathogens*, 2023, 12:565. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040565>
13. Pallavi S, Achyut B, Soni M et al. Morphological and Molecular Characterization of Aflatoxin Producing Strains of *Aspergillus* spp. in Groundnut from India. *Cytol Genet*, 2025, 59, 397–407. <https://doi.org/10.3103/S0095452725040097>
14. Acuña-Gutiérrez C, Jiménez VM, Müller J. Occurrence of mycotoxins in pulses. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2022, 21:4002–4017. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13008>
15. Pisuttu C, Risoli S, Moncini L et al. Sustainable strategies to counteract mycotoxins contamination and cowpea weevil in chickpea seeds during post-harvest. *Toxins*, 2023, 15:61. <https://doi.org/10.3390/toxins15010061>
16. Vitalini S, Iriti M & Vallone L. Mycotoxins in European Union Regulations (2023-2025). *Italian Journal of Food Safety*, 2025, 15(1):14096. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2025.14096>
17. Annunziata L, Campana G, De Massis MR et al. Ochratoxin A in Foods and Beverages: Dietary Exposure and Risk Assessment. *Expo Health*, 2025, 17, 481–494. <https://doi.org/10.1007/s12403-024-00672-2>
18. Wang J, Sufar EK, Bernhoft A et al. Mycotoxin contamination in organic and conventional cereal grain and products: A systematic literature review and meta-analysis. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2024, 23:e13363. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13363>
19. Quaglia M, Beccari G, Vella GF et al. Marketed quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds: A mycotoxin-free matrix contaminated by mycotoxigenic fungi. *Pathogens*, 2023, 12:418. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030418>
20. Perrone G, Mulè G, Susca A et al. Ochratoxin A production and amplified fragment length polymorphism analysis of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tubingensis*, and *Aspergillus niger* strains isolated from grapes in Italy. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72:680–685. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.680-685.2006>
21. Rojas A, Bass LG, Campos-Camacho J et al. Integrative taxonomy in helminth analysis: protocols and limitations in the twenty-first century. *Parasites Vectors*, 2025, 18, 87. <https://doi.org/10.1186/s13071-025-06682-6>
22. Zarrin M, Ganj F & Faramarzi S. Analysis of the rDNA internal transcribed spacer region of the *Fusarium* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Biomedical reports*, 20164(4), 471–474. <https://doi.org/10.3892/br.2016.615>
23. Tamura K, Stecher G & Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol*, 2021, 38(7):3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
24. Magan N, & Aldred D. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *Intern J Food Microbiol*, 2007, 119(1-2), 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.ijfood-micro.2007.07.034>
25. Samson RA, Visagie CM, Houbraken J et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 2014, 78, 141–173. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>

26. Martín I, Gálvez L, Guasch L et al. Fungal Pathogens and Seed Storage in the Dry State. *Plants*, 2022, 11(22):3167. <https://doi.org/10.3390/plants11223167>
27. Nada S, Nikola T, Bozidar U et al. Prevention and practical strategies to control mycotoxins in the wheat and maize chain. *Food Control*, 2022, 136, 108855. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108855>
28. Syraji Y, Jeyaramraja PR, Mada T et al. Comprehensive review of aflatoxin contamination, its occurrence, effects, management, and future perspectives. *Discov Food*, 2025, 5, 377. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00680-4>
29. Magan N, Aldred D, Mylona K et al. Limiting mycotoxins in stored wheat. *Food Addit Cont*, 2010, 1;27(5):644-50. <https://doi.org/10.1080/19440040903514523>
30. Chulze SN. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review. *Food Addit Cont*, 2010, 27(5), 651–657. <https://doi.org/10.1080/19440040903573032>

Қазақстанның Ақмола облысындағы ноқат тұқымдарындағы *Aspergillus* сақтау саңырауқұлақтарының молекулалық идентификациясы және әртүрлілігі

Р.С. Уахит¹, А.М. Смагулова², А.С. Абаш³, В.С. Киян⁴, К.А. Дюсембаев^{*5}

^{1,2,4,5}Биоәртүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасы,

Ұлттық биотехнология орталығы, Астана, Қазақстан

³Жаратылыстану ғылымдарының жоғары мектебі,

Астана халықаралық университеті, Астана, Қазақстан

⁵Биотехнология және микробиология кафедрасы,

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

Аңдатпа. Ноқат (*Cicer arietinum* L.) – егін жинаудан кейінгі сапасы жиі оппортунистік сақтау саңырауқұлақтарымен төмендейтін, микотоксиндермен ластануына байланысты экономикалық шығындарға және денсаулыққа әлеуетті қауіп төндіретін маңызды бұршақ дақылы. Оның ауылшаруашылық маңызына қарамастан, Қазақстанда ноқат тұқымдарын зақымдайтын сақтау саңырауқұлақтары туралы ақпарат шектеулі күйде қалып отыр. Бұл зерттеудің мақсаты Ақмола облысында өсірілген ноқат тұқымдарын ластайтын *Aspergillus* түрлерін бөліп алу және анықтау болды. Жергілікті ауылшаруашылық өндірісінен алынған 200-ден астам тұқым үлгілері бағаланды. Бастапқы микробиологиялық талдау мен микроскопиялық зерттеуден кейін рибосомалық ДНҚ-ның ішкі транскрипцияланатын спейсері (ITS) аймағын амплификациялау және секвенирлеу арқылы нақты молекулалық идентификация жасалды. Алынған тізбектердің филогенетикалық талдауы екі түрлі түрдің: *Aspergillus niger* және *Aspergillus fumigatus* бар екенін растады. Осы барлық жерде таралған сапрофиттердің бөлініп алынуы жергілікті климаттық факторлар мен қойма микроклиматы әсерінен ушығатын, егін жинаудан кейінгі саңырауқұлақтардың айтарлықтай көбеюін көрсетеді. Бұл нәтижелер аймақтық егін жинаудан кейінгі инфрақұрылымдағы маңызды осалдықты көрсетеді және қатаң фитосанитариялық мониторинг қажеттілігін баса айтады. Жақсартылған, тұрақты сақтауды басқару стратегияларын енгізу саңырауқұлақтармен ластануды азайту және жергілікті ауылшаруашылық өнімдерінің қауіпсіздігін қамтамасыз ету үшін өте маңызды.

Түйін сөздер: *Cicer arietinum*, сақтау саңырауқұлақтары, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, ITS рДНҚ, фитосанитариялық мониторинг, егін жинаудан кейінгі сапа

Молекулярная идентификация и разнообразие грибов хранения *Aspergillus* в семенах нута в Акмолинской области Казахстана

Р.С. Уахит¹, А.М. Смагулова², А.С. Абаш³, В.С. Киян⁴, К.А. Дюсембаев^{*5}

^{1,2,4,5}Лаборатория биоразнообразия и генетических ресурсов,
Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан;

³Высшая школа естественных наук,

Международный университет Астана, Астана, Казахстан;

⁵Кафедра биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет
имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Аннотация. Нут (*Cicer arietinum* L.) – важная зернобобовая культура, послеуборочное качество которой часто снижается из-за оппортунистических грибов хранения, что приводит к экономическим потерям и потенциальным рискам для здоровья в связи с контаминацией микотоксинами. Несмотря на его сельскохозяйственное значение, информация о грибах хранения, поражающих семена нута в Казахстане, остается ограниченной. Целью данного исследования было выделение и идентификация видов *Aspergillus*, контаминирующих семена нута, выращенного в Акмолинской области. Было оценено более 200 образцов семян, полученных из местного сельскохозяйственного производства. После первичного микробиологического анализа и микроскопического исследования была проведена точная молекулярная идентификация путем амплификации и секвенирования региона внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) рибосомной ДНК. Филогенетический анализ полученных последовательностей подтвердил наличие двух различных видов: *Aspergillus niger* и *Aspergillus fumigatus*. Выделение этих повсеместно распространенных сапрофитов указывает на значительное размножение послеуборочных грибов, усугубляемое местными климатическими факторами и микроклиматом хранилищ. Эти результаты выявляют значительную уязвимость в региональной послеуборочной инфраструктуре и подчеркивают необходимость строгого фитосанитарного мониторинга. Внедрение улучшенных, устойчивых стратегий управления хранением имеет решающее значение для снижения грибковой контаминации и обеспечения безопасности местной сельскохозяйственной продукции.

Ключевые слова: *Cicer arietinum*, грибы хранения, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, ITS рДНК, фитосанитарный мониторинг, послеуборочное качество

Авторлар туралы мәлімет:

Уахит Рабиға Сейтбатталқызы – PhD, Ұлттық биотехнология орталығы Биоәртүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының аға ғылыми қызметкері, 010000, Астана, Қазақстан.

Смагулова Айнура Муратовна – биология ғылымдарының кандидаты, Ұлттық биотехнология орталығы Биоәртүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының аға ғылыми қызметкері, 010000, Астана, Қазақстан.

Абаш Алтынгүл Сембайқызы – Астана халықаралық университеті Жаратылыстану ғылымдары жоғары мектебінің докторанты, 010000, Астана, Қазақстан.

Киян Владимир Сергеевич – PhD, профессор, Ұлттық биотехнология орталығы Биоәртүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының меңгерушісі, 010000, Астана, Қазақстан.

Дюсембаев Казбек Амзеұлы – хат-хабар авторы, PhD, Ұлттық биотехнология орталығы Биоәртүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының ғылыми қызметкері, 010000, Астана, Қазақстан; Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті Биотехнология және микробиология кафедрасының аға оқытушысы, 010000, Астана, Қазақстан.

Сведения об авторах:

Уахит Рабиға Сейтбатталқызы – PhD, старший научный сотрудник Лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, 010000, Астана, Казахстан.

Смагулова Айнура Муратовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, 010000, Астана, Казахстан.

Абаш Алтынгүл Сембайқызы – докторант Высшей школы естественных наук Международного университета Астана, 010000, Астана, Казахстан.

Киян Владимир Сергеевич – PhD, профессор, заведующий Лабораторией биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, 010000, Астана, Казахстан.

Дюсембаев Казбек Амзеұлы – автор корреспондент, PhD, научный сотрудник Лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, 010000, Астана, Казахстан; старший преподаватель кафедры биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева, 010000, Астана, Казахстан.

Authors' information:

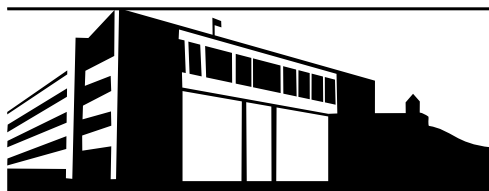
Rabiga Uakhit – PhD, senior research scientist, Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center for Biotechnology, 010000, Astana, Kazakhstan.

Ainura Smagulova – Candidate of biological sciences, senior research scientist, Laboratory of biodiversity and genetic resources, National Center for Biotechnology, 010000, Astana, Kazakhstan.

Altyngul Abash – PhD student, Higher school of natural sciences, Astana international university, 010000, Astana, Kazakhstan.

Vladimir Kiyan – PhD, professor, head of the Laboratory of Biodiversity and genetic resources, National Center for Biotechnology, 010000, Astana, Kazakhstan.

Kazbek Dyussebayev – corresponding author, research scientist, Laboratory of biodiversity and genetic resources, National Center for Biotechnology, 010000, Astana, Kazakhstan; senior lecturer, Department of biotechnology and microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, 010000, Astana, Kazakhstan.



МРНТИ 34.15.27; 31.27.17;
76.29.53; 31.27.19

Научная статья

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-19-37>

Биохимическая и функциональная характеристика эндонуклеазы NucS из *Mycobacterium tuberculosis*

Ұ.Ө. Зейн¹, Б.Ш. Якупов², С.А. Тимошук³, А.М. Тургимбаева⁴,
Р. И. Берсимбай⁵, С.К. Абельденов^{6*}

^{1,3,5} Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан.

^{2,4,6} Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан.

E-mail: ¹zeinulan1@gmail.com, ²bakhtiyarkupov@gmail.com, ³savva_750@mail.ru,
⁴turgimbayeva@gmail.com, ⁵ribersim@gmail.com, ⁶abeldenov@biocenter.kz

Аннотация. Нарастающая лекарственная устойчивость *M. tuberculosis* обуславливает необходимость поиска новых молекулярных мишеней. Перспективным объектом в этом отношении является эндонуклеаза NucS — функциональный аналог канонической системы репарации ошибочно спаренных оснований MutS–MutL–MutH, отсутствующих у микобактерий.

В настоящей работе проведена биохимическая и функциональная характеристика NucS из *M. tuberculosis*. Рекомбинантные белки MtbNucS и MtbDnaN получены в системе *E. coli Arctic Express* (DE3). Показано, что MtbNucS проявляет избирательную нуклеазную активность в отношении субстратов с мисматчами G•T и U•G; оптимальные условия катализа — 25 мМ Tris-HCl (pH 8,0), 40 мМ MgCl₂ и 2,5 мМ MnCl₂. Скользящий зажим MtbDnaN оказывает двухфазный дозозависимый эффект на активность фермента. Сайт-направленный мутагенез подтвердил ключевую роль остатков W52 и D137 в формировании активного центра NucS. Полученные данные обосновывают перспективность MtbNucS как мишени для разработки новых противотуберкулёзных препаратов.

Ключевые слова: туберкулез, *Mycobacterium tuberculosis*, NucS, репарация ДНК, репарация ошибочно спаренных оснований, антибиотикорезистентность.

Введение

По данным ВОЗ за 2021–2024 годы, Казахстан входит в число 30 стран с наиболее высокой распространённостью множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и устойчивого к рифампицину (РУ-ТБ) [1]. В 2023 году в стране зарегистрировано 14 000 случаев туберкулёза (70 на 100 000 населения), из которых 5 600 (28 на 100 000) приходилось на МЛУ-ТБ/РУ-ТБ [2].

Существующие антибиотики воздействуют на ключевые клеточные процессы, однако нарастающая лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* существенно ограничивает их эффективность. Это обуславливает необходимость поиска новых молекулярных мишеней, среди которых особый интерес представляют системы репарации ДНК, играющие ключевую роль в выживаемости и вирулентности микобактерий [3].

В ходе инфекционного процесса геном *M. tuberculosis* непрерывно подвергается повреждающему воздействию со стороны макрофагов хозяина и антибиотиков, а системы репарации ДНК обеспечивают геномную стабильность патогена и его патогенность [4, 5]. Примечательно, что, в отличие от большинства организмов, *M. tuberculosis* лишён классических белков системы репарации неспаренных оснований (MMR) — MutS и MutL [6], несмотря на то что частота и спектр спонтанного мутагенеза у него сопоставимы с видами с функциональной репарацией ошибочно спаренных оснований [7], что указывает на существование альтернативного механизма репарации ошибочно спаренных оснований (MMR).

У микобактерий роль канонической системы MutS–MutL–MutH выполняет белок NucS. Делеция *nucS* у *M. smegmatis* воспроизводит фенотип MMR-дефицитных штаммов: резкое возрастание частоты мутаций, преобладание транзиций и усиление гомологичной рекомбинации. В комплексе с ДНК-полимеразой DnaE1 NucS обеспечивает исключительно низкий уровень мутагенеза — порядка 10^{-10} на нуклеотид за поколение [7].

Филогенетический анализ показывает, что NucS возник у архей после их дивергенции и был передан актинобактериям посредством горизонтального переноса генов, сопровождавшегося утратой системы MutS–MutL у их общего предка. За пределами актинобактерий и группы *Deinococcus-Thermus* NucS-подобные белки не обнаружены, что объясняет их мозаичное филогенетическое распределение [7].

Хотя ранее высказывалось предположение о том, что однонуклеотидные полиморфизмы в генах репарации и репликации лежат в основе гипермутабельности *M. tuberculosis* [8], их фактический вклад в мутагенез оказался незначительным. Вместе с тем были идентифицированы гипермутабельные клинические изоляты *M. tuberculosis* со сниженной активностью белка NucS [7], что подчёркивает его ключевую роль в поддержании геномной стабильности патогена.

Инактивация *nucS* у *M. smegmatis* повышает частоту мутаций примерно в 100 раз [9], а в зависимости от вида организма и антибиотика — в 86–280 раз, что сопоставимо с эффектом инактивации *mutS/mutL*, при которой прирост мутагенеза достигает 100–1000 раз [10].

Сравнительный анализ последовательностей NucS из *S. ambifaciens* и его ортологов из *M. smegmatis*, *M. tuberculosis* и *C. glutamicum* показал высокую степень идентичности — 75%, 78% и 72% соответственно, — свидетельствующую о значительной эволюционной консервативности белка среди актинобактерий. Структурно N-концевой домен NucS отвечает за связывание ДНК, тогда как C-концевой RecB-подобный домен несёт каталитическую нуклеазную активность [11]. Каталитическая активность NucS дополнительно

усиливается при взаимодействии со скользящим зажимом: у архей эту роль выполняет PCNA, связывание с которым осуществляется через консервативный PIP-мотив [12].

Приведённые данные обосновывают перспективность ферментов репарации ДНК как молекулярных мишеней для разработки новых противотуберкулёзных препаратов в условиях нарастающей лекарственной устойчивости [3, 4, 13]. Настоящая работа посвящена биохимической и функциональной характеристике нуклеазы NucS из *M. tuberculosis*.

Материалы и методы исследования

Амплификация и клонирование генов *nucS* и *dnaN*

Гены *nucS* и *dnaN* амплифицировали из геномной ДНК *M. tuberculosis* H37Rv с использованием ДНК-полимеразы Phusion (1×HF буфер, 0,2 мМ дНТФ, 42 нг матрицы). Для клонирования *nucS* в pET28c(+) и pMBP-parallel2 использовали праймеры с сайтами NdeI/EcoRI и NcoI/EcoRI соответственно; для *dnaN* — праймеры с сайтами NdeI/BamHI. Температурный профиль для *nucS*: +98°C 1 мин; 35 циклов (+98°C 10 с, +55°C 30 с, +72°C 30 с); +72°C 7 мин; для *dnaN* — аналогично, но элонгация +72°C 1 мин и финальная +72°C 10 мин.

ПЦР-продукты очищали набором Monarch PCR & DNA Cleanup Kit (NEB). Вставки и векторы гидролизовали соответствующими рестриктазами и лигировали при +4°C в течение 16 часов (50 нг вектора, 40 нг вставки, 0,5 ед. T4 ДНК-лигазы). Клетки *E. coli* DH5α трансформировали тепловым шоком; положительные клоны отбирали ПЦР-скринингом с праймерами T7 или M13. Плазмидную ДНК выделяли набором MiniPrep (Thermo Scientific) и верифицировали секвенированием по Сэнгеру.

Для амплификации генов использовали следующие праймеры (Таблица 1).

Таблица 1

Список праймеров

NdeI-MtbNucS_fw	5' GGTTTCATATGAGTCGGGTGCGTCTAGTC 3'
EcoRI-MtbNucS_rv	5' CCGGAATTCCTCAGAACAGCCGGTACTCG 3'
NcoI-MtbNucS-parallel2	5' GCCATGGGAAGTCGGGTGCGTCTAGTC 3'
EcoRI-MtbNucS-parallel2	5' CCTTTGAATTCTCAGAACAGCCGGTACTCGCC 3'
NdeI-MtbDnaN	5' GGGTTTCATATGGACGCGGCTACGACAAGAGTTG 3'
BamHI-MtbDnaN	5' CGCGGATCCTCAGCCCGGCAACCGAAC 3'

Сайт-направленный мутагенез

Мутантные варианты NucS W52S и D137A получали методом сайт-направленного мутагенеза на векторе pMBP-parallel2/MtbNucS с использованием набора QuickChange® XL (Stratagene) и соответствующих пар праймеров. После ПЦР реакционную смесь (15 мкл) инкубировали с DpnI (0,5 мкл) при +37°C в течение 1 часа для деградации матричной ДНК, после чего трансформировали клетки *E. coli* DH5α тепловым шоком. Наличие целевых замен верифицировали секвенированием по Сэнгеру.

Для сайт-направленного мутагенеза использовали следующие праймеры (Таблица 2).

Таблица 2

Список праймеров для сайт-направленного мутагенеза

MtbNucS_W52S_Fw	5' GTTGAAC TCGATGAGTCCGCCGTGCT 3'
MtbNucS_W52S_Rv	5' GACTCATCGAGTTCAACGGCTTGTAG 3'
MtbNucS_D137A_Fw	5' GCGATCGGCCCCGTCGACCTGCTGT 3'
MtbNucS_D137A_Rv	5' TCGACGGGGCCGATCGCGGTCATGT 3'

Хроматографическая очистка рекомбинантных белков MtbNucS и MtbDnaN

Белки MtbNucS дикого типа и мутантные варианты W52S и D137A экспрессировали в *E. coli* Arctic Express (DE3), трансформированной соответствующими плазмидами pMBP-parallel2. Экспрессию индуцировали 0,5 мМ ИПТГ при OD₆₀₀ = 0,6 с последующей инкубацией при +18°C, 100 об/мин в течение 16 часов. Клетки осаждали (6000×g, +4°C, 7 мин), ресуспендировали в буфере 20 мМ Tris-HCl pH 8,0, 200 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА с ингибиторами протеаз и разрушали обработкой лизоцимом (3 мг/мл, 20 мин) и ультразвуком. Лизат осаждали центрифугированием (40 000×g, +4°C, 1 час). Очистку проводили последовательно на колонках MBPTrap HP, HisTrap, Q/SP и Sephacryl S-200 (все Cytiva) на системе ÄKTA go в градиенте мальтозы до 10 мМ.

Белок MtbDnaN экспрессировали аналогично из плазмиды pET28c(+)/MtbDnaN и очищали металл-хелатной хроматографией на колонке HisTrap HP в градиенте имидазола 50–500 мМ. Все белковые фракции хранили при –20°C в 50% глицерине.

Определение репарационной активности

Субстратную специфичность исследовали с использованием 22-мерных и 75-мерных ДНК-дуплексов формата X•N, где X — ошибочно спаренный нуклеотид (A, G, C, T или U) в TAMRA-меченой цепи, N — комплементарный нуклеотид (A, G, C или T) в противоположной цепи. Дуплексы получали отжигом в буфере 50 мМ KCl, 20 мМ HEPES-KOH (pH 7,5) при +65°C в течение 5 минут с последующим охлаждением до комнатной температуры в течение 1 часа.

Реакционная смесь (20 мкл) содержала 20 нМ субстрата 5'-TAMRA-X•N, 25 мМ Tris-HCl (pH 8,0), 5 мМ DTT, 0,1 мг/мл BSA, 0,1% Triton X-100 и фермент в варьируемых концентрациях. Инкубацию проводили при +37°C; реакцию останавливали стоп-буфером (0,2% ДСН, 20 мМ ЭДТА). Продукты реакции обессоливали на колонках с сефадексом G25 (GE Healthcare, 7,5 М мочевины) и разделяли электрофорезом в денатурирующем 20% ПААГ (7,5 М мочевины, 0,5× TBE). Гели сканировали на системе Molecular Imager® PhorosFX™ и анализировали в программе Image Gauge v.4.0.

Список олигонуклеотидов, использованных для определения субстратной специфичности фермента (Таблица 3).

Таблица 3

Список олигонуклеотидов

U-22-TAMRA	TAMRA-d(CACTTCGGAUTGTGACTGATCC), где U - 2' дезоксиуридин
22-COMPL-G	5' GGATCAGTCACAGTCCGAAGTG 3'
U-75-TAMRA	TAMRA-d(CATTACAGCGCCTGCAAGCTCAATTAA TCGTAXTGCTACACTG-GAGTACCGGAGCGTCGTCATGACAACGAATGG), где X - 2'-deoxyuridine
75-mer_compl-G	5' CCATTTCGTTGTCATGACGACGCTCCGGTACTCCAGT GTAGCAGTACGAT-TAATTGAGCTTGCAGGCGCTGTAATG 3'
75-mer_compl-A	5' CCATTTCGTTGTCATGACGACGCTCCGGTACTCCAGT GTAGCAATACGAT-TAATTGAGCTTGCAGGCGCTGTAATG 3'
TAMRA - Mis-match-G	5' CGAACTGCCTGGAATCCTGACGACGTGTAGCGAACG ATCACCTCA 3'
TAMRA - Mis-match-T	5' CGAACTGCCTGGAATCCTGACGACTTGTAGCGAAC GATCACCTCA 3'
Mismatch-T-compl	5' TGAGGTGATCGTTCGCTACATGTCGTCAGGATTCCA GGCAGTTTCG 3'
Mismatch-C-compl	5' TGAGGTGATCGTTCGCTACACGTCGTCAGGATTCC AGGCAGTTTCG 3'
A-22-TAMRA	TAMRA-d(CACTTCGGAATGTGACTGATCC), где А в 10 положении
C-22-TAMRA	TAMRA-d(CACTTCGGACTGTGACTGATCC), где С в 10 положении
G-22-TAMRA	TAMRA-d(CACTTCGGAGTGTGACTGATCC), где G в 10 положении
T-22-TAMRA	TAMRA-d(CACTTCGGATTGTGACTGATCC), где Т в 10 положении
22-COMPL-T	5' GGATCAGTCACATTCGGAAGTG 3'
22-COMPL-A	5' GGATCAGTCACAATCCGAAGTG 3'
22-COMPL-C	5' GGATCAGTCACACTCCGAAGTG 3'
22-COMPL-G	5' GGATCAGTCACAGTCCGAAGTG 3'

Филогенетический анализ и построение модели

Аминокислотную последовательность MtbNucS получали из NCBI GenBank; поиск гомологов проводили алгоритмом BLASTp, множественное выравнивание — в программах Clustal Omega и MEGA11. Структуру гомолога EndoMS *T. kodakarensis* (PDB ID: 5GKE) загружали из базы данных PDB; предсказание структуры MtbNucS выполняли с использованием платформы AlphaFold. Наложение структур и сравнительный анализ расположения аминокислотных остатков проводили в программе PyMOL (Schrödinger, NY).

Результаты и обсуждение

Клонирование генов *nucS* и *dnaN* из *M. tuberculosis* в вектора *pET28c(+)* и *pMBP-parallel2*

Гены *nucS* (681 п.о.) и *dnaN* (1209 п.о.) были амплифицированы из геномной ДНК *M. tuberculosis* и клонированы в векторы pET28c(+) и pMBP-parallel2 по соответствующим сайтам рестрикции. Секвенирование по Сэнгеру подтвердило 100% идентичность полученных последовательностей референсным данным GenBank (NC_000962.3) и отсутствие мутаций. В результате были сконструированы плазмиды pET28c/MtbNucS, pMBP-parallel2/MtbNucS и pET28c/MtbDnaN.

Оптимизация экспрессии и очистка белка TEV

Для отщепления MBP-метки от гибридного белка MBP-NucS была получена рекомбинантная TEV-протеаза. Оптимальные условия экспрессии — 0,5 мМ ИПТГ, +18°C, ночная инкубация — были подобраны в штамме *E. coli Arctic Express* (DE3) путём сравнения трёх штаммов при различных концентрациях индуктора. Очистку проводили двухэтапно: аффинной хроматографией на колонке HisTrap HP (через N-концевую His-метку) с последующей катионообменной хроматографией на колонке SP HP (через C-концевую полиаргининовую метку). Полученная фракция TEV-протеазы (рис. 1) была использована для гидролиза MBP-NucS с целью высвобождения нативной формы NucS.

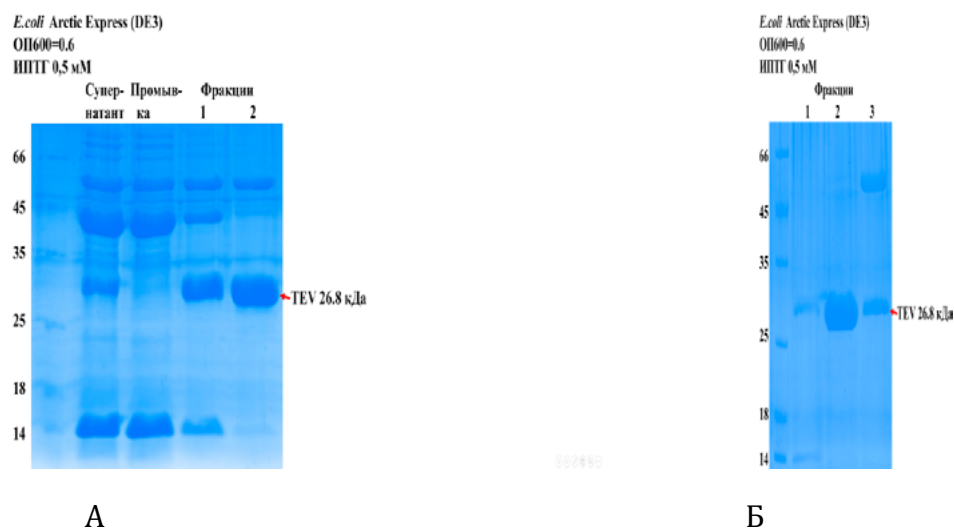


Рисунок 1. Гели двухэтапной очистки TEV-протеазы: (А) аффинная хроматография на колонке HisTrap HP, основанная на взаимодействии N-концевой гистидиновой метки с никельсодержащим сорбентом; (Б) ионно-обменная хроматография на катионообменной колонке SP HP, использующая положительный заряд C-концевой полиаргининовой метки для дополнительной очистки белка

Оптимизация условий экспрессии и хроматографическая очистка белка MtbNucS из вектора pET28c(+)/MtbNucS

Экспрессию белка NucS тестировали в трёх штаммах *E. coli* — Arctic Express (DE3), BL21 (DE3) и Rosetta2 (DE3). Наибольший уровень экспрессии был достигнут в штамме Arctic Express (DE3), тогда как в BL21 (DE3) и Rosetta2 (DE3) целевой белок определялся лишь в следовых количествах. Однако во всех условиях NucS преимущественно накапливался в нерастворимой фракции, что свидетельствует о его склонности к агрегации.

Дополнительная оптимизация в штамме Arctic Express (DE3) показала, что наилучшие результаты достигаются при индукции 0,5 мМ ИПТГ на стадии OD₆₀₀ = 0,6 с инкубацией при +18°C в течение 16 часов. Повышение концентрации ИПТГ и оптической плотности культуры до OD₆₀₀ = 0,8 приводило к снижению уровня экспрессии. При оптимальных условиях из 3 л культуры было получено воспроизводимое количество растворимого NucS, достаточное для биохимических экспериментов (рис. 2). В финальной фракции присутствовал шаперон Срп60, удалить который полностью не удалось, однако его присутствие не влияло на каталитическую активность NucS.

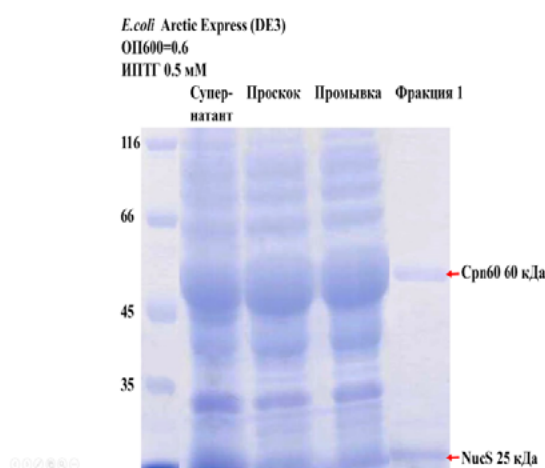


Рисунок 2. Электрофореграмма (SDS-PAGE) очистки рекомбинантного белка NucS.

Оптимизация условий экспрессии и хроматографическая очистка белка MtbNucS из вектора pMBP-parallel2/MtbNucS

Для повышения растворимости NucS использовали стратегию слияния с MBP на основе вектора pMBP-parallel2. Экспрессию гибридного белка MBP-NucS проводили в *E. coli* Arctic Express (DE3) (600 мл ЛБ, 0,5 мМ ИПТГ, OD₆₀₀ = 0,6, +18°C, 16 часов). После аффинной очистки на колонке MBPTrap была получена высокоочищенная фракция MBP-NucS с молекулярной массой ~70 кДа (рисунок 3).

Для высвобождения нативного NucS проводили гидролиз TEV-протеазой в различных условиях: +37°C (2 и 3,5 ч) и +4°C (16 ч) с варьированием количества протеазы (5–40 ед.). Во всех случаях расщепление оставалось неполным: на электрофореze выявлялись полосы нерасщепленного MBP-NucS (~70 кДа), MBP (~45 кДа) и целевого NucS (~25 кДа). Неполный гидролиз, по всей видимости, обусловлен стерической недоступностью сайта расщепления или частичной агрегацией гибридного белка (рис. 3).

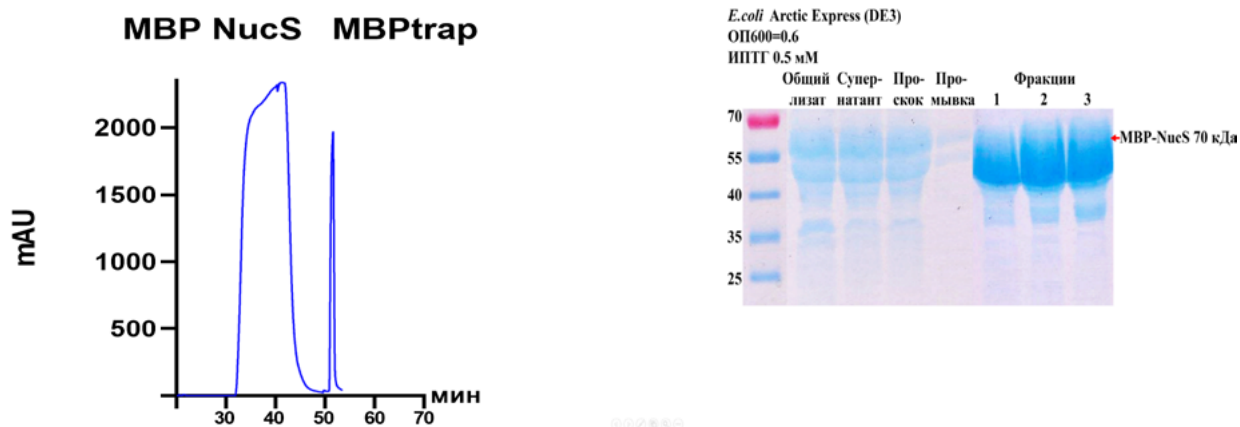


Рисунок 3. Результат хроматографической очистки рекомбинантного гибридного белка MBP-NucS из водорастворимой фракции на MBPTrap HP колонке: А – хроматограмма, Б – электрофореграмма

Для выделения целевого белка после гидролиза TEV-протеазой была применена аффинная хроматография на колонке HisTrap HP, обеспечивающая удержание His-меченой протеазы и свободного MBP. Электрофоретический анализ показал наличие двух компонентов: нерасщепленного MBP-NucS и целевого NucS, что свидетельствует об эффективном удалении свободного MBP (рис. 4).

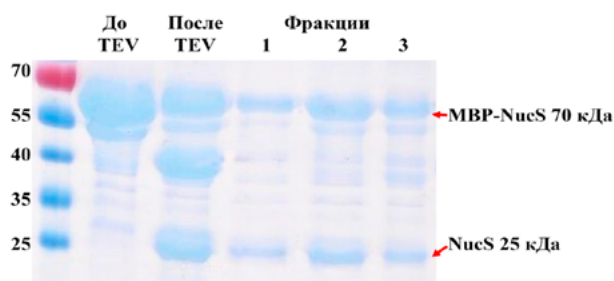


Рисунок 4. Очистка белка NucS после гидролиза TEV протеазой и разделение на MBP-NucS и NucS с использованием колонки HisTrap HP

Оптимальным соотношением для протеолиза оказалось 1 мкг/мл белка на 0,1 мкг/мкл TEV-протеазы, однако полного расщепления MBP-NucS достичь не удалось, по всей видимости, вследствие стерической недоступности сайта узнавания протеазы.

Финальную очистку NucS проводили гель-фильтрацией на колонке Sephacryl S-200, что позволило разделить компоненты смеси по гидродинамическому объёму, удалить остатки нерасщепленного MBP-NucS и TEV-протеазы и получить обогащенную фракцию целевого белка для последующих биохимических экспериментов (рис. 5).

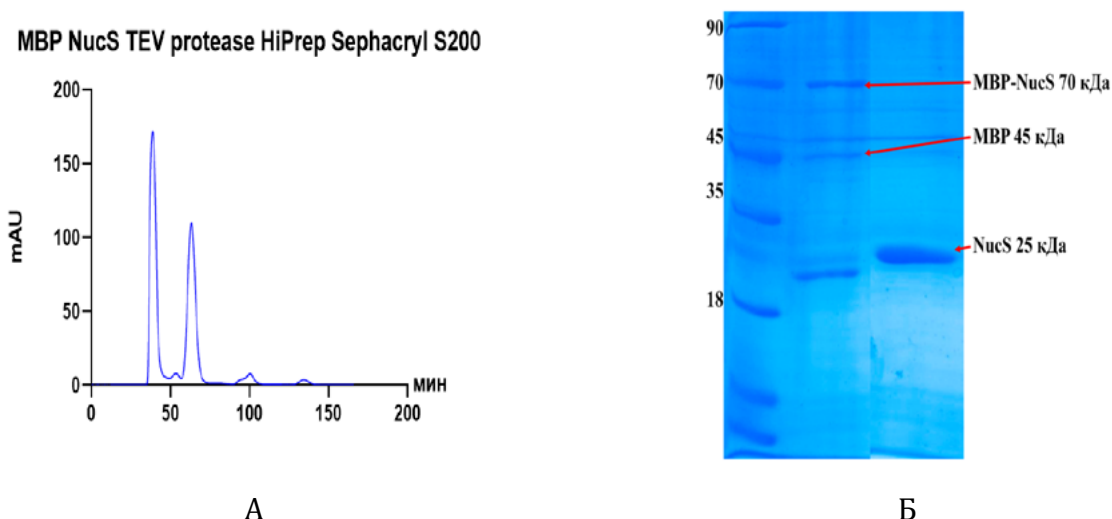


Рисунок 5. Хроматограмма (А) и электрофореграмма в SDS (Б) очистки рекомбинантного белка MBP-NucS на колонке Sepharose S-200 после гидролиза TEV-протеазой

Хроматографическая очистка белка MtbDnaN из вектора pET28c(+)/MtbNucS

Рекомбинантный белок MtbDnaN был экспрессирован в *E. coli Arctic Express* (DE3) и очищен металл-хелатной хроматографией через N-концевую His-метку. Электрофоретический анализ подтвердил чистоту препарата на уровне ~95% (рис. 6). В растворе MtbDnaN существует в виде димера с молекулярной массой ~84 кДа.

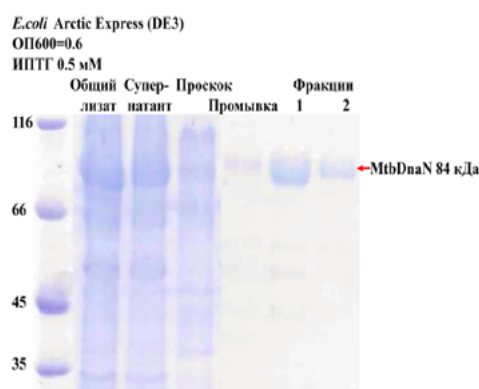


Рисунок 6. Электрофореграмма хроматографической очистки рекомбинантного белка MtbDnaN

Определение репарационной активности MtbNucS

Каталитическую активность NucS исследовали в реакции гидролиза 45-мерного субстрата 45GT (5'-TAMRA, 10 нМ) в буфере 25 мМ HEPES-NaOH (pH 6,5), 2,5 мМ MgCl₂, 5 мМ DTT, 0,1 мг/мл BSA, 0,1% Triton X-100 при +37°C в течение 1 часа. Была зафиксирована слабая, но воспроизводимая активность фермента (рис. 7), что может быть обусловлено неполным отщеплением MBP-метки, частичной агрегацией белка или необходимостью дополнительных кофакторов, в частности скользящего зажима DnaN.

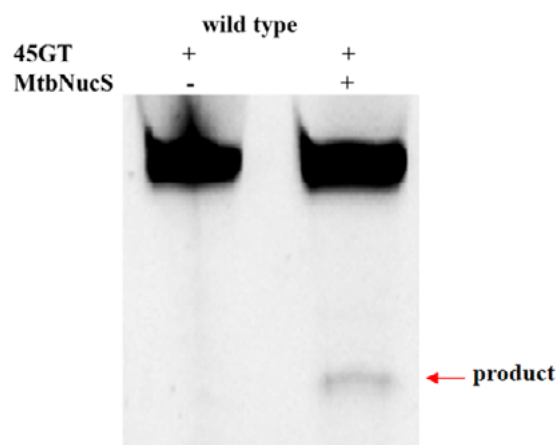


Рисунок 7. Определение активности белка NucS в отношении флуоресцентно-меченого субстрата 45GT (5'-TAMRA).

Для определения субстратной специфичности белка NucS была проведена серия реакций с набором 22-мерных олигонуклеотидных субстратов, меченных флуорофором TAMRA на 5'-конце, в стандартных реакционных условиях (25 mM Tris-HCl pH 8.0; 2,5 mM MgCl₂; 5 mM DTT; 0,1 мг/мл BSA; 0,1% Triton X-100; +37°C; 1 час). Анализ продуктов реакции показал, что белок NucS проявляет избирательную каталитическую активность в отношении субстрата, содержащего мисматч U•G — урацил напротив гуанина (рис. 8). Полученные данные согласуются с предполагаемой ролью NucS в распознавании и репарации ошибочно спаренных оснований.

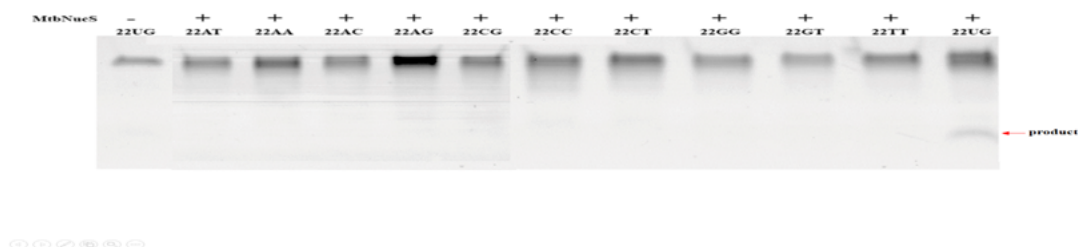
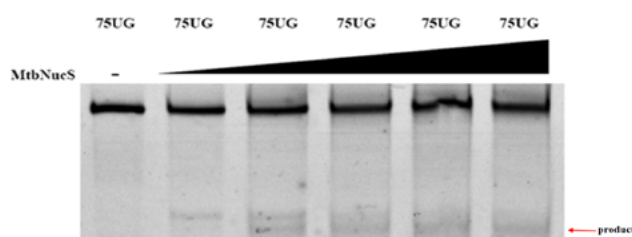


Рисунок 8. Активность белка NucS в отношении субстрата, содержащего урацил напротив гуанина

С целью оценки зависимости процессивности NucS от концентрации белка была проведена серия реакций с 75-мерным субстратом 75 UG, содержащим мисматч U•G и меченным TAMRA на 5'-конце, в аналогичных условиях (рис. 9). Результаты показали, что повышение концентрации белка NucS в реакционной смеси сопровождается умеренным, но воспроизводимым увеличением процессивности фермента в отношении данного субстрата. Дозозависимый характер активности свидетельствует о том, что каталитическая эффективность NucS определяется в том числе доступностью фермента относительно субстрата, что может иметь значение для регуляции репарационной активности в условиях клетки.



©©©©©©

Рисунок 9. Влияние концентрации белка NucS на процессивность при действии на субстрат 75GT (5'-TAMRA)

Зависимость эндонуклеазной активности MtbNucS от присутствия кофакторов металлов

Поскольку активность ряда эндонуклеаз MMR-систем зависит от двухвалентных ионов металлов [30, 31], было исследовано их влияние на активность NucS. Показано, что повышение концентрации $MgCl_2$ (рис. 10) и $MnCl_2$ концентрационно-зависимо стимулирует активность фермента, тогда как добавление $CoCl_2$ оказывает ингибирующее действие — частичное в комбинации с $MgCl_2$ и полное в комбинации с $MnCl_2$, вероятно вследствие конкуренции Co^{2+} за координационные центры активного сайта. Для дальнейших экспериментов были выбраны концентрации 40 mM $MgCl_2$ и 2,5 mM $MnCl_2$.

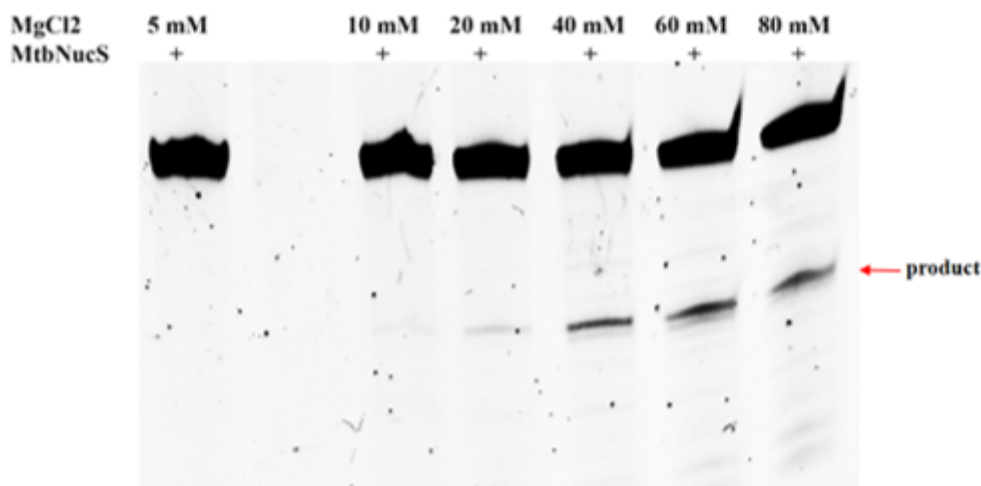


Рисунок 10. Влияние ионов $MgCl_2$ на активность белка NucS.

Стимуляция активности эндонуклеазы MtbNucS с помощью β -зажима

Скользкий зажим DnaN координирует активность ферментов репарации ДНК у *M. tuberculosis* [14, 15] и напрямую взаимодействует с NucS через консервативный пентапептидный мотив на С-конце последнего, стимулируя расщепление мисматч-содержащей ДНК [16, 17]. Критическая роль этого взаимодействия подтверждена на

модели *M. smegmatis* [18]. В нашей работе было установлено что добавление MtbDnaN к реакциям с NucS из обоих векторов вызывает двухфазный эффект: низкие концентрации DnaN умеренно стимулируют процессивность NucS, тогда как избыток белка приводит к практически полному подавлению гидролиза (рис. 11). Данный эффект может быть обусловлен нарушением стехиометрии комплекса NucS–DnaN и требует дальнейшего изучения.

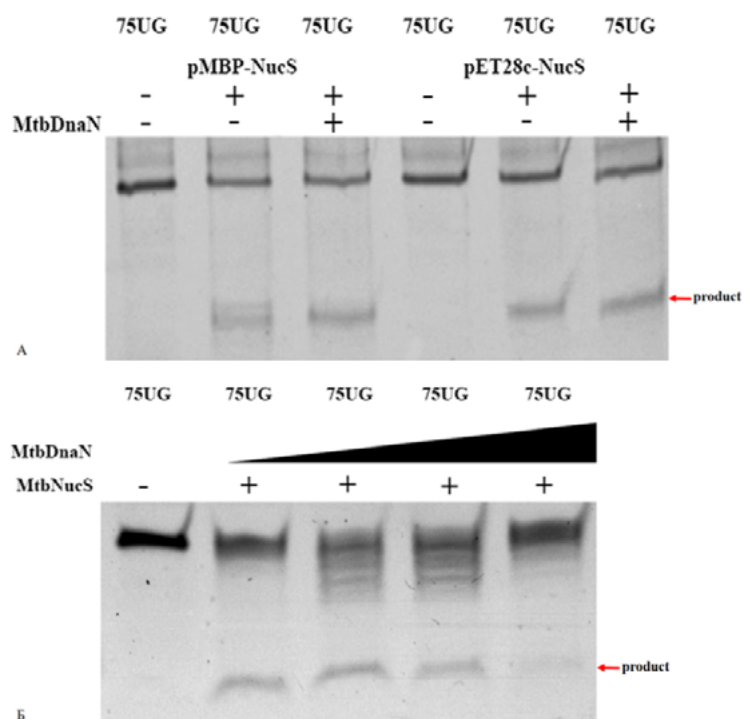
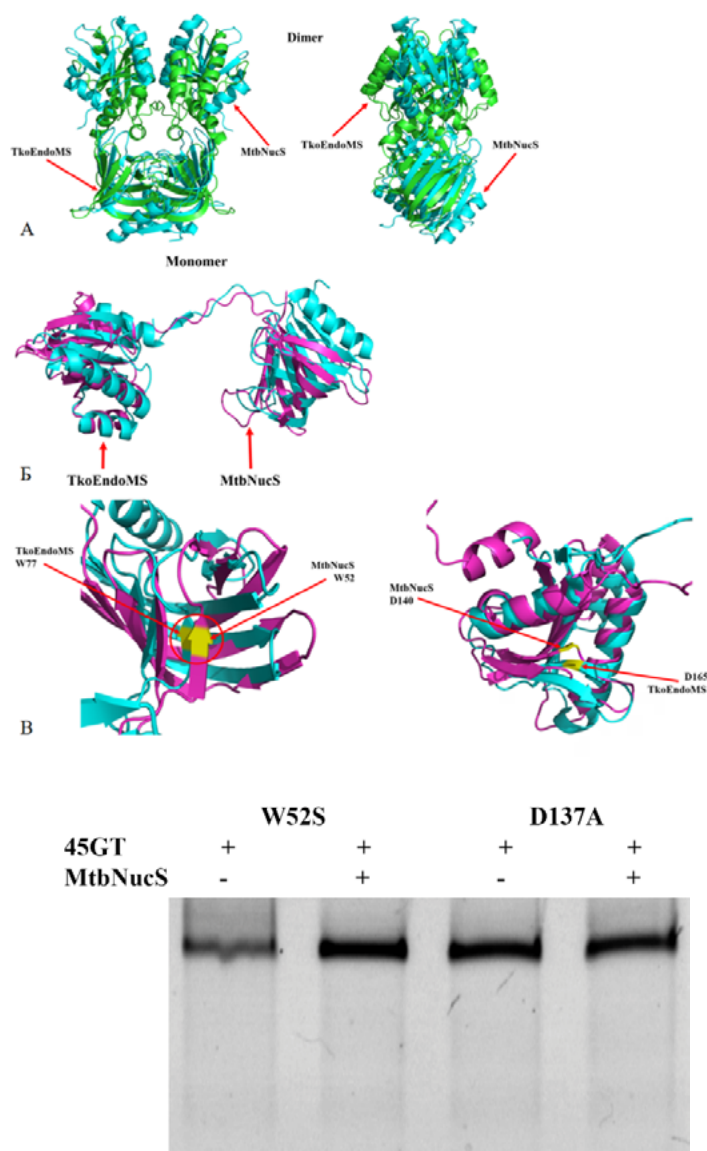


Рисунок 11. Влияние белка MtbDnaN на активность NucS (A) — реакция с добавлением MtbDnaN; (B) — влияние увеличения концентрации MtbDnaN на расщепление субстрата

Гомологичное моделирование и сайт направленный мутагенез

Сравнительный биоинформатический анализ NucS *M. tuberculosis* и EndoMS *T. kodakarensis* выявил консервативные остатки W52 и D137, соответствующие ключевым для взаимодействия с субстратом позициям W77 и D165 EndoMS [19]. Наложение AlphaFold-модели NucS на кристаллическую структуру EndoMS (PDB ID: 5GKE) в PyMOL подтвердило структурную консервативность данных остатков (рис. 12A). Мутантные варианты W52S и D137A, полученные сайт-направленным мутагенезом, практически полностью утрачивали активность в отношении субстрата 45GT, что экспериментально подтверждает ключевую роль этих остатков в катализе и консервативность механизма действия эндонуклеаз данного семейства у бактерий и архей (рис. 12Б).



Б

Рисунок 12. (А) Сравнение трёхмерных структур белков NucS *M. tuberculosis* и EndoMS *Thermococcus kodakarensis*. (Б) Активность нативного и мутантных вариантов белка NucS *M. tuberculosis* при гидролизе ДНК-субстрата 45GT.

Закключение

Была проведена биохимическая и функциональная характеристика нуклеазы NucS из *M. tuberculosis* — ключевого компонента альтернативной системы репарации ошибочно спаренных оснований, функционирующей у микобактерий вместо канонической системы MutS–MutL–MutH.

Гены *nucS* и *dnaN* были успешно клонированы в экспрессионные векторы pET28c(+) и pMBP-parallel2, а соответствующие рекомбинантные белки получены в системе *E. coli Arctic Express* (DE3). Показано, что белок MtbNucS проявляет нуклеазную активность в отношении ДНК-субстратов, содержащих мисматчи типа G•T и U•G. Оптимальные условия катализа определены как 25 mM Tris-HCl (pH 8,0), 40 mM MgCl₂ и 2,5 mM MnCl₂, при этом ионы Co²⁺ полностью ингибируют активность фермента. Установлено, что скользящий зажим MtbD-

paN оказывает дозозависимый двухфазный эффект на активность NucS: стимулирующий при низких концентрациях и ингибирующий при избытке белка. Биоинформатический анализ и сайт-направленный мутагенез подтвердили ключевую роль консервативных остатков W52 и D137 в формировании активного центра фермента и их функциональную аналогию с остатками W77 и D165 архейного гомолога EndoMS.

Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что MtbNucS обеспечивает геномную стабильность *M. tuberculosis* и, с учётом его уникальных структурно-функциональных особенностей и отсутствия гомологов у человека, представляет перспективную мишень для разработки новых противотуберкулёзных препаратов, актуальных в условиях нарастающей множественной лекарственной устойчивости.

Вклад авторов

Ұ.З. и С.А. – руководство исследованием, критический пересмотр содержания; **Ұ.З., Б.Я., С.Т. и А.Т.** – концептуализация, проведение экспериментов, обработка данных, подготовка аннотации, подготовка иллюстрированного материала и формулирование выводов; **Ұ.З., Р.Б., и С.А.** – редактирование текста, структурная и библиографическая проверка. Все авторы ознакомились с окончательной версией рукописи и одобрили её к публикации.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан в рамках грантового проекта AP19680500 «Изучение молекулярных механизмов репарации ошибочно спаренных нуклеотидов у возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis*».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

Список литературы

1. Всемирная организация здравоохранения. Доклад: Глобальный доклад по туберкулёзу 2024 / Всемирная организация здравоохранения, 2024. – URL: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/7292c91e-ffb0-4cef-ac39-0200f06961ea/content>. (дата обращения 2025-23-10)
2. Всемирная организация здравоохранения. Информационный бюллетень: Профиль туберкулёза: Казахстан / Всемирная организация здравоохранения, 2025. – URL: <https://data.who.int/countries/398>. (дата обращения 2025-23-10)
3. Kurthkoti K., Kumar P., Sang P. B., Varshney U. Base excision repair pathways of bacteria: new promise for an old problem // Future Med Chem. – 2020. – Т. 12, № 4. – С. 339-355. <https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0267>

4. Memar M. Y., Yekani M., Celenza G., Poortahmasebi V., Naghili B., Bellio P., Baghi H. B. The central role of the SOS DNA repair system in antibiotics resistance: A new target for a new infectious treatment strategy // *Life Sci.* – 2020. – T. 262. – C. 118562. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118562>
5. van der Veen S., Tang C. M. The BER necessities: the repair of DNA damage in human-adapted bacterial pathogens // *Nat Rev Microbiol.* – 2015. – T. 13, № 2. – C. 83-94. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3391>
6. Singh A. Guardians of the mycobacterial genome: A review on DNA repair systems in *Mycobacterium tuberculosis* // *Microbiology (Reading).* – 2017. – T. 163, № 12. – C. 1740-1758. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000578>
7. Castañeda-García A., Prieto A. I., Rodríguez-Beltrán J., Alonso N., Cantillon D., Costas C., Pérez-Lago L., Zegeye E. D., Herranz M., Płociński P., Tonjum T., García de Viedma D., Paget M., Waddell S. J., Rojas A. M., Doherty A. J., Blázquez J. A non-canonical mismatch repair pathway in prokaryotes // *Nat Commun.* – 2017. – T. 8. – C. 14246. <https://doi.org/10.1038/ncomms14246>
8. Rock J. M., Lang U. F., Chase M. R., Ford C. B., Gerrick E. R., Gawande R., Coscolla M., Gagneux S., Fortune S. M., Lamers M. H. DNA replication fidelity in *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by an ancestral prokaryotic proofreader // *Nat Genet.* – 2015. – T. 47, № 6. – C. 677-81. <https://doi.org/10.1038/ng.3269>
9. Zhang L., Jiang D., Wu M., Yang Z., Oger P. M. New Insights Into DNA Repair Revealed by NucS Endonucleases From Hyperthermophilic Archaea // *Front Microbiol.* – 2020. – T. 11. – C. 1263. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01263>
10. Cebrián-Sastre E., Martín-Blecua I., Gullón S., Blázquez J., Castañeda-García A. Control of Genome Stability by EndoMS/NucS-Mediated Non-Canonical Mismatch Repair // *Cells.* – 2021. – T. 10, № 6. <https://doi.org/10.3390/cells10061314>
11. Dagva O., Thibessard A., Lorenzi J. N., Labat V., Piotrowski E., Rouhier N., Myllykallio H., Leblond P., Bertrand C. Correction of non-random mutational biases along a linear bacterial chromosome by the mismatch repair endonuclease NucS // *Nucleic Acids Res.* – 2024. – T. 52, № 9. – C. 5033-5047. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae132>
12. Nakae S., Hijikata A., Tsuji T., Yonezawa K., Kouyama K. I., Mayanagi K., Ishino S., Ishino Y., Shirai T. Structure of the EndoMS-DNA Complex as Mismatch Restriction Endonuclease // *Structure.* – 2016. – T. 24, № 11. – C. 1960-1971. <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.09.005>
13. Reiche M. A., Warner D. F., Mizrahi V. Targeting DNA Replication and Repair for the Development of Novel Therapeutics against Tuberculosis // *Front Mol Biosci.* – 2017. – T. 4. – C. 75. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00075>
14. Mulye M., Singh M. I., Jain V. From Processivity to Genome Maintenance: The Many Roles of Sliding Clamps // *Genes (Basel).* – 2022. – T. 13, № 11. <https://doi.org/10.3390/genes13112058>
15. Lata K., Vishwakarma J., Kumar S., Khanam T., Ramachandran R. *Mycobacterium tuberculosis* Endonuclease VIII 2 (Nei2) forms a prereplicative BER complex with DnaN: Identification, characterization, and disruption of complex formation // *Mol Microbiol.* – 2022. – T. 117, № 2. – C. 320-333. <https://doi.org/10.1111/mmi.14848>
16. Cebrián-Sastre E., Ruiz-Enamorado Á., Castañeda-García A. et al. Regulation of the expression of nucS, a key component of mismatch repair system in mycobacteria // *Antibiotics (Basel).* – 2025. – T. 14, № 11. – C. 1065. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14111065>
17. Takemoto N., Numata I., Su'etsugu M., Miyoshi-Akiyama T. Bacterial EndoMS/NucS acts as a clamp-mediated mismatch endonuclease to prevent asymmetric accumulation of replication errors // *Nucleic Acids Res.* – 2018. – T. 46, № 12. – C. 6152-6165. <https://doi.org/10.1093/nar/gky481>

18. Rivera-Flores I. V., Wang E. X., Murphy K. C. *Mycobacterium smegmatis* NucS-promoted DNA mismatch repair involves limited resection by a 5'-3' exonuclease and is independent of homologous recombination and NHEJ // *Nucleic Acids Res.* – 2024. – Т. 52, № 20. – С. 12308-12323. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae895>

19. Ishino S., Nishi Y., Oda S., Uemori T., Sagara T., Takatsu N., Yamagami T., Shirai T., Ishino Y. Identification of a mismatch-specific endonuclease in hyperthermophilic Archaea // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Т. 44, № 7. – С. 2977-86. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw153>

***Mycobacterium tuberculosis* алынған NucS эндонуклеазасының биохимиялық және функционалдық сипаттамасы**

**Ұ. Ө. Зейн¹, Б. Ш. Якупов², С. А. Тимощук³, А. М. Тургимбаева⁴,
Р. И. Берсимбай⁵, С. К. Абельденов^{6*}**

^{1,3,5} Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

^{2,4,6} Ұлттық биотехнология орталығы, Астана, Қазақстан

Аңдатпа. *M. tuberculosis*-тің дәріге төзімділігінің артуы жаңа молекулалық нысандарды іздестіруді қажет етеді. Бұл тұрғыдан перспективті объект болып микобактерияларда жоқ канондық MutS–MutL–MutH сәйкессіз негіздерді жөндеу жүйесінің функционалдық аналогы NucS эндонуклеазасы табылады.

Осы жұмыста *M. tuberculosis*-тен алынған NucS-тің биохимиялық және функционалдық сипаттамасы жүргізілді. MtbNucS және MtbDnaN рекомбинантты белоктары *E. coli Arctic Express* (DE3) жүйесінде алынды. MtbNucS G•T және U•G сәйкессіздіктері бар субстраттарға қатысты таңдамалы нуклеазалық белсенділік көрсететіні дәлелденді; катализдің оңтайлы жағдайлары — 25 mM Tris-HCl (pH 8,0), 40 mM MgCl₂ және 2,5 mM MnCl₂. MtbDnaN сырғымалы қысқышы ферменттің белсенділігіне екі фазалы дозаға тәуелді әсер етеді. Сайтқа бағытталған мутагенез W52 және D137 қалдықтарының NucS белсенді орталығының қалыптасуындағы маңызды рөлін растады. Алынған мәліметтер MtbNucS-ті жаңа туберкулезге қарсы препараттар әзірлеудің нысаны ретіндегі перспективтілігін негіздейді.

Түйін сөздер: туберкулез, *Mycobacterium tuberculosis*, NucS, ДНҚ репарациясы, қате жұпталған негіздерді жөндеу, антибиотикке төзімділік.

Biochemical and functional characterization of NucS endonuclease from *Mycobacterium tuberculosis*

**U.O. Zein¹, B.S. Yakupov², S.A. Timoshchuk³, A.M. Turgimbayeva⁴,
R.I. Bersimbay⁵, S.K. Abeldenov^{6*}**

^{1,3,5} L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

^{2,4,6} National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan

Abstract. The growing drug resistance of *M. tuberculosis* necessitates the search for new molecular targets. A promising candidate in this regard is the NucS endonuclease — a functional analog of the canonical MutS–MutL–MutH mismatch repair system, which is absent in mycobacteria.

In the present study, the biochemical and functional characterization of NucS from *M. tuberculosis* was performed. Recombinant proteins MtbNucS and MtbDnaN were expressed in the *E. coli* Arctic Express (DE3) system. MtbNucS was shown to exhibit selective nuclease activity toward substrates containing G•T and U•G mismatches; optimal catalytic conditions were 25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 40 mM MgCl₂, and 2.5 mM MnCl₂. The sliding clamp MtbDnaN exerts a biphasic, dose-dependent effect on enzyme activity. Site-directed mutagenesis confirmed the critical role of residues W52 and D137 in the formation of the NucS active site. The data obtained support the potential of MtbNucS as a target for the development of novel antituberculosis drugs.

Keywords: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, NucS, DNA repair, mismatch repair, antibiotic resistance.

References

1. World Health Organization. Report: Global Tuberculosis Report 2024 / World Health Organization, 2024. – URL: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/7292c91e-ffb0-4cef-ac39-0200f06961ea/content>. (дата обращения 2025-23-10)
2. World Health Organization. Fact sheet: Tuberculosis profile: Kazakhstan/ World Health Organization, 2025. – URL: <https://data.who.int/countries/398>. (дата обращения 2025-23-10)
3. Kurthkoti K., Kumar P., Sang P. B., Varshney U. Base excision repair pathways of bacteria: new promise for an old problem // *Future Med Chem.* – 2020. – Т. 12, № 4. – С. 339-355. <https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0267>
4. Memar M. Y., Yekani M., Celenza G., Poortahmasebi V., Naghili B., Bellio P., Baghi H. B. The central role of the SOS DNA repair system in antibiotics resistance: A new target for a new infectious treatment strategy // *Life Sci.* – 2020. – Т. 262. – С. 118562. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118562>
5. van der Veen S., Tang C. M. The BER necessities: the repair of DNA damage in human-adapted bacterial pathogens // *Nat Rev Microbiol.* – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 83-94. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3391>
6. Singh A. Guardians of the mycobacterial genome: A review on DNA repair systems in *Mycobacterium tuberculosis* // *Microbiology (Reading)*. – 2017. – Т. 163, № 12. – С. 1740-1758. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000578>
7. Castañeda-García A., Prieto A. I., Rodríguez-Beltrán J., Alonso N., Cantillon D., Costas C., Pérez-Lago L., Zegeye E. D., Herranz M., Płociński P., Tonjum T., García de Viedma D., Paget M., Waddell S. J., Rojas A. M., Doherty A. J., Blázquez J. A non-canonical mismatch repair pathway in prokaryotes // *Nat Commun.* – 2017. – Т. 8. – С. 14246. <https://doi.org/10.1038/ncomms14246>
8. Rock J. M., Lang U. F., Chase M. R., Ford C. B., Gerrick E. R., Gawande R., Coscolla M., Gagneux S., Fortune S. M., Lamers M. H. DNA replication fidelity in *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by an ancestral prokaryotic proofreader // *Nat Genet.* – 2015. – Т. 47, № 6. – С. 677-81. <https://doi.org/10.1038/ng.3269>
9. Zhang L., Jiang D., Wu M., Yang Z., Oger P. M. New Insights Into DNA Repair Revealed by NucS Endonucleases From Hyperthermophilic Archaea // *Front Microbiol.* – 2020. – Т. 11. – С. 1263. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01263>
10. Cebrián-Sastre E., Martín-Blecua I., Gullón S., Blázquez J., Castañeda-García A. Control of Genome Stability by EndoMS/NucS-Mediated Non-Canonical Mismatch Repair // *Cells.* – 2021. – Т. 10, № 6. <https://doi.org/10.3390/cells10061314>
11. Dagva O., Thibessard A., Lorenzi J. N., Labat V., Piotrowski E., Rouhier N., Myllykallio H., Leblond P., Bertrand C. Correction of non-random mutational biases along a linear bacterial

chromosome by the mismatch repair endonuclease NucS // *Nucleic Acids Res.* – 2024. – Т. 52, № 9. – С. 5033-5047. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae132>

12. Nakae S., Hijikata A., Tsuji T., Yonezawa K., Kouyama K. I., Mayanagi K., Ishino S., Ishino Y., Shirai T. Structure of the EndoMS-DNA Complex as Mismatch Restriction Endonuclease // *Structure.* – 2016. – Т. 24, № 11. – С. 1960-1971. <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.09.005>

13. Reiche M. A., Warner D. F., Mizrahi V. Targeting DNA Replication and Repair for the Development of Novel Therapeutics against Tuberculosis // *Front Mol Biosci.* – 2017. – Т. 4. – С. 75. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00075>

14. Mulye M., Singh M. I., Jain V. From Processivity to Genome Maintenance: The Many Roles of Sliding Clamps // *Genes (Basel).* – 2022. – Т. 13, № 11. <https://doi.org/10.3390/genes13112058>

15. Lata K., Vishwakarma J., Kumar S., Khanam T., Ramachandran R. *Mycobacterium tuberculosis* Endonuclease VIII 2 (Nei2) forms a prereplicative BER complex with DnaN: Identification, characterization, and disruption of complex formation // *Mol Microbiol.* – 2022. – Т. 117, № 2. – С. 320-333. <https://doi.org/10.1111/mmi.14848>

16. Cebrián-Sastre E., Ruiz-Enamorado Á., Castañeda-García A. et al. Regulation of the expression of nucS, a key component of mismatch repair system in mycobacteria // *Antibiotics (Basel).* – 2025. – Т. 14, № 11. – С. 1065. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14111065>

17. Takemoto N., Numata I., Su'etsugu M., Miyoshi-Akiyama T. Bacterial EndoMS/NucS acts as a clamp-mediated mismatch endonuclease to prevent asymmetric accumulation of replication errors // *Nucleic Acids Res.* – 2018. – Т. 46, № 12. – С. 6152-6165. <https://doi.org/10.1093/nar/gky481>

18. Rivera-Flores I. V., Wang E. X., Murphy K. C. *Mycobacterium smegmatis* NucS-promoted DNA mismatch repair involves limited resection by a 5'-3' exonuclease and is independent of homologous recombination and NHEJ // *Nucleic Acids Res.* – 2024. – Т. 52, № 20. – С. 12308-12323. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae895>

19. Ishino S., Nishi Y., Oda S., Uemori T., Sagara T., Takatsu N., Yamagami T., Shirai T., Ishino Y. Identification of a mismatch-specific endonuclease in hyperthermophilic Archaea // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Т. 44, № 7. – С. 2977-86. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw153>

Сведения об авторах:

Зейн Ұлан Өтеғалиұлы – автор для корреспонденции, студент докторантуры по специальности «Биология», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Сатпаева, 2, 010000, Астана, Казахстан.

Якупов Бахтияр Шаттыкович – младший научный сотрудник ТОО «Национальный центр биотехнологии», шоссе Коргалжын, 13/5, 010000 Астана, Казахстан.

Тимощук Савва Александрович – студент магистратуры по специальности «Биология», Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Сатпаева, 2, 010000, Астана, Казахстан.

Тургимбаева Айгерим Макашкызы – старший научный сотрудник ТОО «Национальный центр биотехнологии», шоссе Коргалжын, 13/5, 010000 Астана, Казахстан.

Берсимбай Рахметкажы Искендринович – академик НАН РК, доктор биологических наук, профессор. Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Сатпаева, 2, 010000, Астана, Казахстан.

Абельдинов Сайлау Касенович – заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии, ТОО «Национальный центр биотехнологии», шоссе Коргалжын, 13/5, 010000 Астана, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Зейн Ұлан Өтеғалиұлы – хат-хабар авторы, «Биология» мамандығы бойынша докторантура студенті, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев к., 2, 010000, Астана, Қазақстан.

Якупов Бахтияр Шаттыкович – «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС кіші ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Тимощук Савва Александрович – «Биология» мамандығы бойынша магистратура студенті, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев к., 2, 010000, Астана, Қазақстан.

Тургимбаева Айгерим Макашкызы – «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС аға ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Берсімбай Рахметқажы Искендірович – ҚР ҰҒА академигі, биология ғылымдарының докторы, профессор. Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтпаев к., 2, 010000, Астана, Қазақстан.

Абельдинов Сайлау Касенович – молекулалық биотехнология зертханасының меңгерушісі, «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Authors' information:

Zein Ulan Utegalyuly – corresponding author, PhD student in Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev St. 2, 010000, Astana, Kazakhstan.

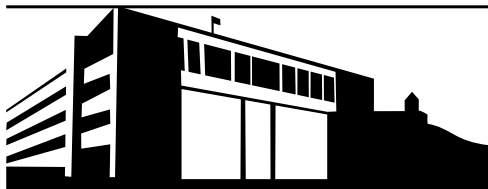
Yakupov Bakhtiyar Shattykovich – Junior Researcher, National Center for Biotechnology LLP, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Timoshchuk Savva Alexandrovich – Master's student in Biology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev St. 2, 010000, Astana, Kazakhstan.

Turgimbayeva Aigerim Makashkyzy – Senior Researcher, National Center for Biotechnology LLP, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Bersimbay Rakhmetkazhy Iskendiroyich – Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Doctor of Biological Sciences, Professor. L.N. Gumilyov Eurasian National University, Satpayev St. 2, 010000, Astana, Kazakhstan.

Abeldinov Sailau Kasenovich – Head of the Laboratory of Molecular Biotechnology, National Center for Biotechnology LLP, Korgalzhyn road 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.



IRSTI

34.29.25:68.37.31:29.31.26

Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-38-56>

Study on the application of hyperspectral imaging for identifying barley loose smut at different stages of development using machine learning methods

R.M. Ualiyeva¹ , A.V. Osipova² , M.M. Kaverina^{*3} ,
M.A. Zhaksybek⁴ , S.B. Zhangazin⁵

^{1,2,3,4}Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan

⁵L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

E-mail: ¹ualiyeva.r@gmail.com, ²aanastasiyaaa@internet.ru, ^{*3}k.ma96@mail.ru,
⁴mzhaksybek@gmail.com, ⁵sayanzhangazin@gmail.com

Abstract. This paper presents a study of the potential of hyperspectral imaging for identifying barley infection by *Ustilago nuda* at various stages of disease development using machine learning methods. The study focused on barley samples (*Hordeum vulgare* L.) collected from agrocenoses in the northeastern part of Pavlodar region. Analysis of spectral characteristics revealed significant differences between healthy, infected, and desiccated plant areas, including reduced reflectance and the absence of a distinct red edge in infected tissues. The Maximum Entropy algorithm was employed for classification. The training set comprised 243 samples, while the testing set included 352 samples with pronounced class imbalance. The model demonstrated high classification accuracy of up to 95%. The results confirm the effectiveness of hyperspectral imaging combined with machine learning for disease detection and monitoring, including at early stages, which can be applied in precision agriculture systems to enhance phytosanitary control efficiency and promote sustainable grain production.

Keywords: hyperspectral imaging, loose smut, barley, monitoring of agrocenoses, disease stages.

Introduction

Barley loose smut, caused by the fungus *Ustilago nuda*, is among the economically significant diseases of cereal crops, leading to substantial yield losses and deterioration of grain quality. A distinctive feature of this disease is the latent nature of infection during the early stages of plant development, where infection occurs at the flowering stage, after which the pathogen persists

Received: 20.05.2026. Accepted: 18.03.2026. Available online: 30.06.2026

*Corresponding author

within tissues for an extended period without producing visual symptoms. Spores can overwinter on plant debris and in soil, infecting young plants in spring. Traditional diagnostic methods based on morphological traits prove largely ineffective for the timely detection of infection and prevention of its spread.

Driven by advances in precision agriculture technologies, remote diagnostic methods designed to detect physiological changes in plants before visible disease symptoms appear are gaining particular relevance. One of the most promising approaches is hyperspectral imaging, based on recording the reflectance properties of objects across a broad range of wavelengths. Hyperspectral imaging (HSI) surpasses conventional methods in speed, objectivity, and automation [1]. HSI is used to detect phytopathogens in cereal seeds [2], assess barley seed quality and hardness [3-5], and determine protein, starch, lipid, mycotoxin [6-8], and nutrient content in barley [9].

HSI also enables the detection of fungal infection in grains at the individual kernel level [10, 11], for instance, rice false smut [12], and facilitates mapping of infection foci across fields [13]. The accuracy of loose smut detection using HSI can reach 90% [12, 14], allowing automatic assessment of infection severity [15]. Classification models for detecting non-viable barley grains have also demonstrated accuracy exceeding 90% [16]. Classification models are developed using SVM, Random Forest, neural networks [17, 18], PLSR [19, 20], PLS-DA [21], and CNN [22], employing both pixel-based and object-based classification [23]. Hyperspectral imaging is actively applied to the detection of barley diseases, enabling the identification of infections at various developmental stages [24].

Despite significant progress in the field of hyperspectral plant analysis, questions concerning the identification of barley loose smut specifically remain insufficiently studied. The high sensitivity of hyperspectral methods and their potential for integration with machine learning algorithms open new prospects for developing accurate and automated diagnostic systems.

Accordingly, the aim of the present study is to investigate the application of hyperspectral imaging for identifying barley loose smut using machine learning methods.

Materials and research methods

The study focused on common barley (*Hordeum vulgare* L., 1753) infected with the loose smut pathogen *Ustilago nuda* ((Jensen) Rostr., 1889). Barley samples were collected from fields in the main grain-producing districts of the northeastern part of Pavlodar region, Republic of Kazakhstan. Healthy barley samples served as controls for comparing spectral patterns and determining reflectance characteristics. Infected and healthy samples were collected during the key barley developmental stages (BBCH 25-35, 39-59, 61-75). The climatic conditions of the study area are characterised by a sharply continental climate, uneven precipitation during the field season - from 15-22 mm to 65-70 mm, winds of 3-5 m/s from the NE and SW, mean air temperatures of +13 to +22 °C, and variation in productive soil moisture reserves from 30 to 90 mm throughout the growing season. Plants were collected from sampling plots using rectangular/triangular or checkerboard/diagonal transect patterns [25].

Analysis, hyperspectral imaging, and subsequent investigation were conducted at the Biological Research Laboratory of Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan. Imaging was performed using a FigSpec FS-13 camera operating in the 400-1000 nm wavelength range, encompassing both the visible and near-infrared regions. The imaging process employed a CMOS detector with a frame rate of 128 fps, spectral resolution of 2.5 nm, and spatial resolution of 1920 pixels, with a pixel size of 5.86 µm. The acquired images were imported into Breeze software for preprocessing and visualisation of spectral data. To obtain accurate, informative data, calibration

was performed using dark and white reference standards, and the model preprocessing stage included the application of a Savitzky-Golay filter for smoothing and noise reduction, SNV, and centering.

To reduce the dimensionality of the large hypercubes obtained, a PCA model was constructed, enabling visualisation of the most informative principal components (PC1 and PC2). Raw Spectrum plots were used to visualise the spectral characteristics of the studied samples, while Variance Scatter point clouds were employed to reveal the distribution of signatures across individual principal components and their variability with respect to features of disease lesions in the hyperspectral images. All these steps ensured noise minimisation, background pixel exclusion, and manual selection of regions of interest using a grid-based approach.

The imaged samples and extracted spectral features were subsequently used for machine learning to test the performance of the algorithmic model. The Maximum Entropy algorithm was selected as the basis for training, distinguished by its applicability to large datasets and suitability for multiclass tasks. The preceding segmentation stage (Figure 1) was conducted on the training set, which included 243 sample segments - 13.2% were healthy areas used as controls, and 86.8% were loose smut-infected areas. The application of cross-validation helped to improve training accuracy.

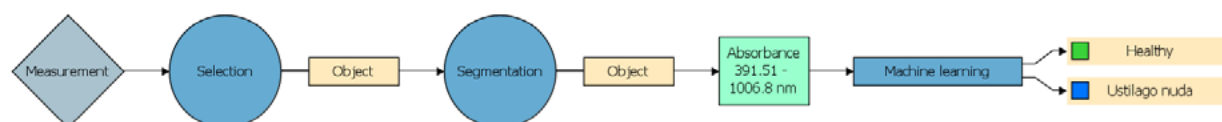


Figure 1. Workflow of the machine learning model from raw data acquisition to automatic detection of disease features

The performance of the machine learning algorithm was tested on samples infected with loose smut at different stages. Based on visual symptoms, and in accordance with State Standard 12044-93 “Methods for determining disease contamination” [26] and the pathogen developmental stages [27] (Figure 2), the infected samples were classified into three stages: early, middle, and late. The number of lesion segments selected for the study across the three developmental stages of loose smut in the testing set totaled 352.

The model was developed on spectral data subjected to analysis of variance (ANOVA) and processed using descriptive statistical methods at $p > 0.05$. Model performance and effectiveness were evaluated using the Confusion Matrix and the key quality metrics Precision, Recall, and F1-score, while indicators such as Accuracy and Matthews Correlation Coefficient were used to confirm model performance.

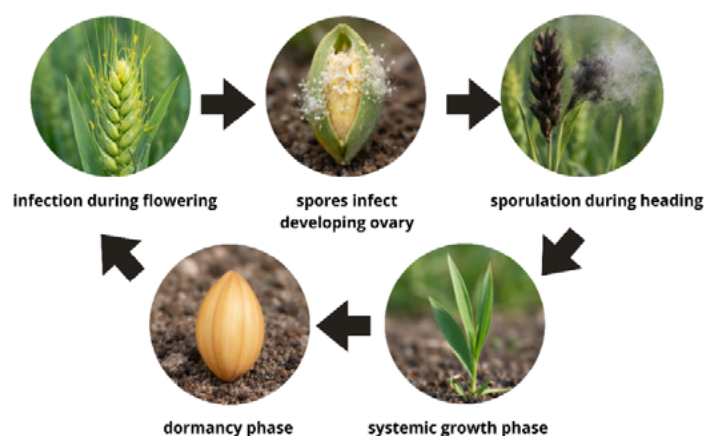


Figure 2. Life cycle of barley loose smut pathogen

Results

The figures present hyperspectral images of barley, Raw Spectrum plots with curves reflecting the spectral characteristics of plant areas, and Variance Scatter diagrams. The hyperspectral image is rendered in false colours corresponding to the intensity of light reflectance. Warm colours (red and yellow) indicate areas with high reflectance, while cool colours (cyan and blue) represent zones of low reflectance. The Raw Spectrum plot contains curves reflecting the spectral characteristics of a specific portion of the hyperspectral image and serves as a basic representation of spectral data, showing the dependence of an object's reflectance coefficient on wavelength (400-1000 nm). This indicator is a key source of information on the physiological state of plant tissues. Variance Scatter diagrams reflect the distribution of objects in principal component space, where $t[1]$ explains the main share of variance and $t[2]$ accounts for the presence and primary characteristics of additional variations. Such visualisation enables assessment of data structure, degree of homogeneity, and differences between disease stages.

Healthy sample

Figure 3 presents a hyperspectral image of a healthy barley sample. The Raw Spectrum plot shows that the highest reflectance intensity is exhibited by spike glumes, with a reflectance coefficient of 30% at the first peak and 27% at the second. The yellow, cyan, and blue curves also correspond to spike areas, with first-peak reflectance intensities of 19%, 18%, and 12%, and second-peak values of 28%, 20%, and 17%, respectively. The green spectrum represents the leaf and some awn areas, where the first-peak reflectance is 10% and the second-peak 17%. The lowest reflectance intensity is observed in the stem and awns, described by the red curve with a reflectance of 5% at the first peak and 16% at the second. The first peak range lies within 500-700 nm, and the second within 700-780 nm. Notably, a sharp decline in the curves with a pronounced red edge is observed at 700 nm.

The Variance Scatter diagram is characterised by a compact, dense cluster in the region of negative or near-zero $t[1]$ values, high point concentration, and limited dispersion. The first principal component $t[1]$ explains 56.7% of total variance, while $t[2]$ explains only 2.16%, which is associated with low intra-class variability.

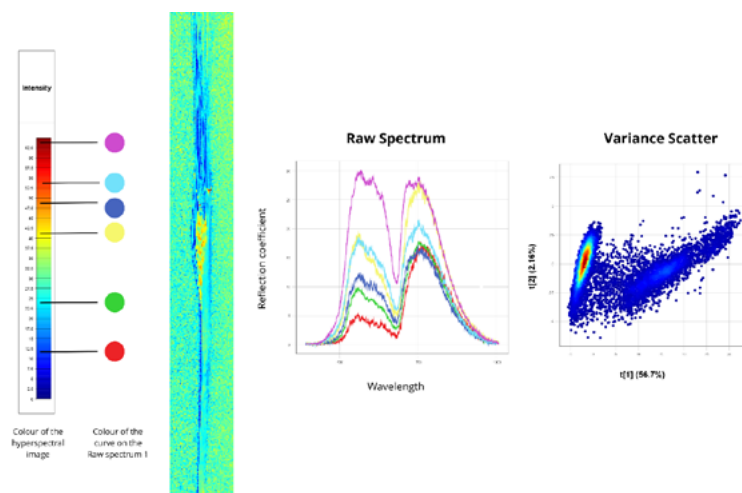


Figure 3. Spectral characteristics of healthy barley

Sample infected with loose smut

Figure 4 shows a barley spike infected with loose smut. In the Raw Spectrum plot, the red curve corresponds to the blue-coloured spike areas affected by the disease, characterised by low spectral intensity with a reflectance coefficient of 5-6%. The remaining spectra belong to intact plant tissue and exhibit higher reflectance. The green, yellow, and blue spectra describe green barley tissue and display two distinct peaks: first-peak reflectance values reach 22.5%, 30%, and 37%, with second-peak values of 20%, 30%, and 35%, respectively. Here, the first peak lies in the 550-700 nm range, while the second is recorded in the 700-780 nm range. The cyan and purple curves represent desiccated spike areas with reflectance of 37.5-46%, with the peak located in the 600-700 nm region.

In the Variance Scatter diagram, the first principal component $t[1]$ explains 74.8% of total variance, while the second component $t[2]$ accounts for approximately 6.17% of variance with less significant variations. Additionally, a broad point distribution, a pronounced arc-shaped structure, and strong elongation along $t[1]$ are observed, indicating high heterogeneity of spectral features.

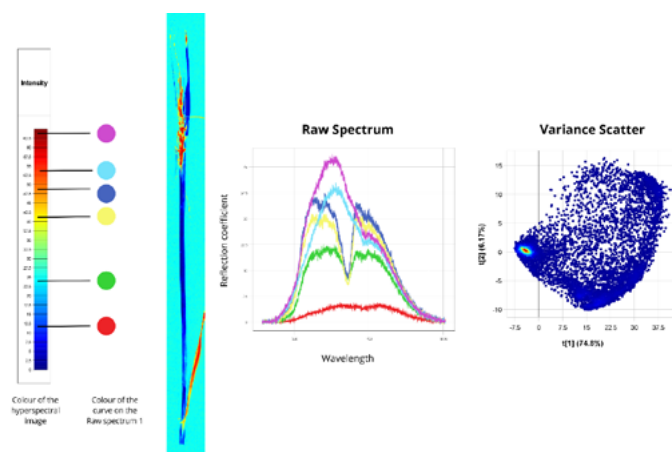


Figure 4. Spectral characteristics of barley infected with loose smut

Testing set

Early stage

Figure 5 shows a sample at the early stage of loose smut development.

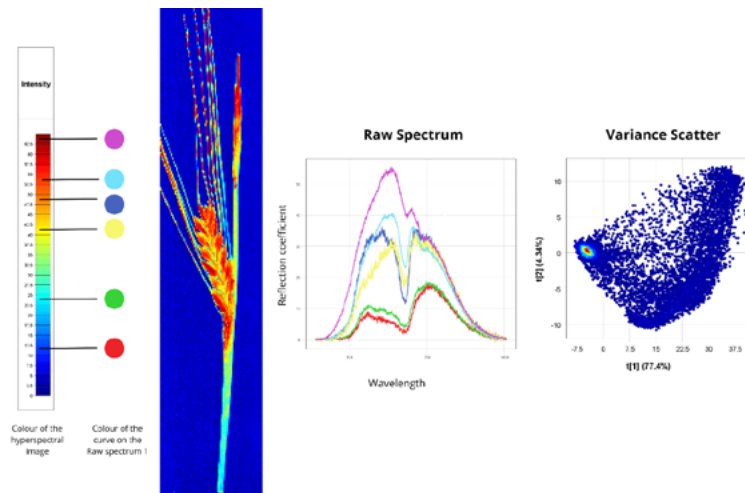


Figure 5. Spectral characteristics of the early stage of loose smut development

The red curve corresponds to infected areas with reflectance in the range of 7-17%, while the green spectrum describes awn areas with reflectance values from 10% to 19%. The yellow, blue, and cyan curves represent healthy stem and spike areas with reflectance of 30-40%, and the purple spectrum depicts healthy spike areas with reflectance reaching 55%. Overall, all curves except the purple one exhibit a pronounced red edge at 700 nm. In the Variance Scatter diagram, the first principal component $t[1]$ explains 77.4% of total variance, while $t[2]$ accounts for only 4.34% of the explained feature variation. The resulting point cloud forms a dense cluster with a distribution tail extending toward positive $t[1]$ values and moderate dispersion. Here, spectral changes are just beginning to emerge, a transitional state is forming, and a significant portion of the sample retains healthy characteristics.

Middle stage

Figure 6 shows a sample at the middle stage of loose smut development, where the red curve corresponds to infected areas with reflectance in the 5-13% range. The green curve describes awn areas with reflectance varying from 10% to 17%. The purple spectrum is characterised by reflectance of 27% and represents unaffected spike areas. The yellow, blue, and cyan curves correspond to healthy stem and spike areas with reflectance ranging from 27% to 38%. All curves except the purple one exhibit a pronounced red edge at 700 nm. In the Variance Scatter diagram, the first principal component $t[1]$ explains 62.4% of total variance, while $t[2]$ accounts for only 4.52% of variance. A marked broadening of the distribution, a clear arc-shaped form, and a rightward shift of the distribution center (along $t[1]$) are observed, explained by intensifying physiological changes and increasing variability of spectral responses.

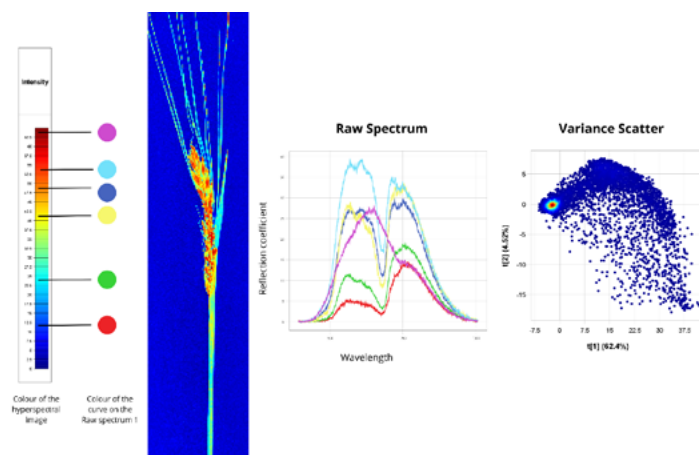


Figure 6. Spectral characteristics of the middle stage of loose smut development

Late stage

Figure 7 shows a sample at the late stage of loose smut development. In the Raw Spectrum plot, the red curve with a reflectance of 5-6% describes areas infected with loose smut. The purple and cyan spectra represent desiccated sample areas with a peak in the 550-700 nm region and reflectance of 35-37.5%. The remaining curves correspond to healthy areas and exhibit two peaks with a pronounced red edge. The first peak is characterised by reflectance values ranging from 16% to 30%, and the second peak from 15% to 28%. According to the Variance Scatter diagram, the first principal component $t[1]$ explains approximately 58.6% of total variance, while the second principal component $t[2]$ explains 8.26% of variance, indicating increased variability and heterogeneity of spectral signatures due to overt disease manifestation. In this case, the distribution exhibits maximum spread, a significant shift along $t[1]$, and a high degree of dispersion and sparsity of points.

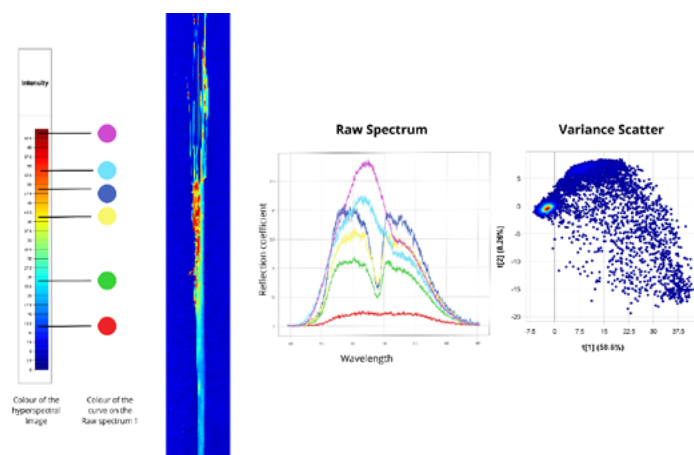


Figure 7. Spectral characteristics of the late stage of loose smut development

Statistical analysis

In order to identify patterns in the pathological process during smut infection, both healthy and infected samples were examined based on reflectance indicators and spectral parameters. For healthy barley, the maximum reflectance was recorded in the spike (mean 21%), the lowest

in the stem with awns (10.5%), and intermediate reflectance intensity was observed in the leaf (13.5%). Particularly noteworthy is the coefficient of variation, ranging from 6.59% for the leaf to 13.30% for the stem with awns, identified as within-group variability, where the greatest heterogeneity according to the indicators was found for stem structures. Additionally, healthy spikes may be characterised by a wider dynamic signal range, manifested primarily through maximum rate of change and delta reflectance values of 11.54 and 18, respectively (Table 1, Figure 8). In healthy plants, all structural elements exhibit reflectance within the 500-780 nm range, with a bandwidth of 280 nm, a contrast ratio of 1.56, a relative bandwidth of 0.219, and a contrast of 0.359 (Table 2, Figure 8). These parameters were thus used as controls for comparison with loose smut-infected samples.

When examining indicators for the second portion of the training set - namely, loose smut infections - all areas were divided into three functional zones: desiccated areas, visually healthy tissue, and tissue directly infected by the pathogen. Desiccated areas were characterised by high reflectance values (37.5 to 46%) combined with low variability (CV=2.59%) and moderate Rate of change and delta reflectance values (7.29 and 8.5, respectively) (Table 1, Figure 8). The spectral range for these areas is narrowed compared with healthy and diseased zones, spanning approximately 600-700 nm, with the contrast ratio decreasing to 1.17 and normalised contrast to 0.143 due to the narrowing of the main spectral response range, confirming homogeneous dehydration and tissue necrosis unaccompanied by active pigment decomposition (Table 2, Figure 8).

Table 1

Barley reflectance characteristics in the spectral domain

№	Species	Part	Reflectance (%)		Mean reflec tance	Standard deviation	Coefficient of variation	Rate of change	Delta reflec- tance
			min	max					
Training set									
1	Healthy	Ear	12	30	21,0	2,29	10,89	11,54	18,0
		Leaf	10	17	13,5	0,89	6,59	4,49	7,0
		Stem and arista	5	16	10,5	1,40	13,30	7,05	11,0
2	<i>Ustilago nuda</i>	Dried area	37,5	46	41,8	1,08	2,59	7,29	8,5
		Healthy area	20	37	28,5	2,16	7,58	11,99	17,0
		Affected area	5	6	5,5	0,13	2,31	0,64	1,0
Testing set									
3	Early stage	Healthy area	10	55	32,5	5,72	17,58	28,85	45,0
		Affected area	7	17	12,0	1,27	10,58	6,41	10,0
4	Middle stage	Healthy area	10	38	24,0	3,56	14,82	17,95	28,0
		Affected area	5	13	9,0	1,02	11,29	5,13	8,0
5	Late stage	Dried area	35	37.5	36,3	0,32	0,88	1,96	2,5
		Healthy area	16	28	22,0	1,52	6,93	7,50	12,0
		Affected area	5	6	5,5	0,13	2,31	0,64	1,0

Table 2

Wavelength parameters of barley spectra

№	Species	Part	Wavelength (nm)		Spectral bandwidth	Contrast ratio	Relative bandwidth	Normalised contrast
			min	max				
Training set								
1	Healthy	Ear, leaf, stem and arista	500	780	280	1,56	0,219	0,359
2	<i>Ustilago nuda</i>	Dried area	600	700	100	1,17	0,077	0,143
		Healthy area	550	780	230	1,42	0,173	0,295
		Affected area	500	780	280	1,56	0,219	0,359
Testing set								
3	Early stage	Healthy, affected area	500	780	280	1,56	0,219	0,359
4	Middle stage	Healthy, affected area	500	780	280	1,56	0,219	0,359
5	Late stage	Dried area	550	700	150	1,27	0,120	0,214
		Healthy area	500	800	300	1,60	0,231	0,375
		Affected area	500	780	280	1,56	0,219	0,359

Healthy areas on the infected plant are distinguished by intermediate reflectance values, lower than those of desiccated zones, accompanied by elevated variation values of 7.58%. Overall, the spectral parameters of these areas are close to those of healthy tissue and fall within the reflectance wavelength range of the healthy sample, indicating partial preservation of the photosynthetic apparatus but with some shifts toward a stress state.

Loose smut-infected areas are marked by a sharp drop in reflectance to 5.5% with minimal variability of 2.31%. All other derived indicators, such as rate of change and delta, are also at minimal levels (0.64 and 1.0, respectively). Infected sample parts are characterised by low reflectance across a broad spectral range (500-780 nm), which is primarily associated with moist, decomposing tissues exhibiting high chlorophyll (absorption) and water content (Tables 1, 2, Figure 8).

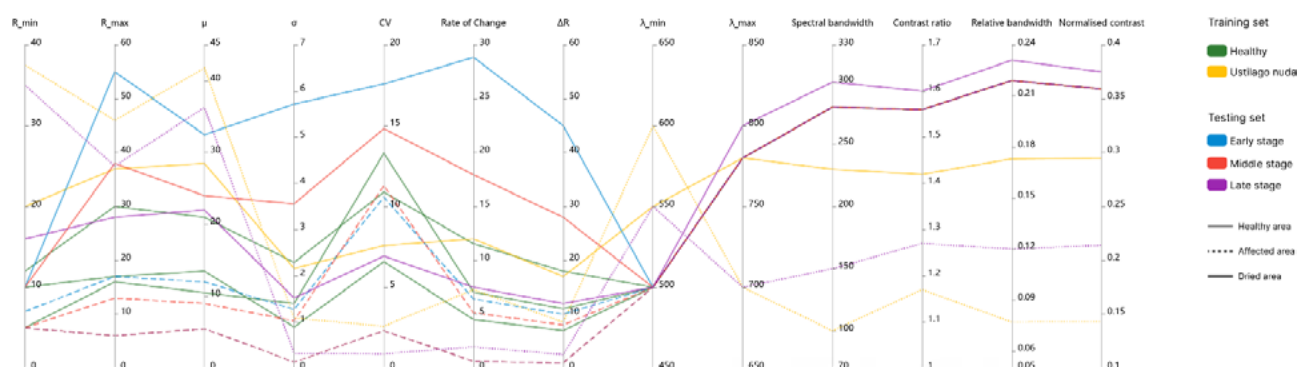


Figure 8. Visualisation of statistical data

A separate analysis was also conducted for the testing set, examining the dynamics of statistical indicators of disease progression. At the early stage, the healthy area is characterised by a mean reflectance of 32.5% and a relatively wide reflectance range (from 10% to 55%) - the highest among all groups - but is distinguished by high variability (CV=17.58%). A delta reflectance value of 45 indicates strong heterogeneity of tissue structures at the initial infection stage. In diseased areas at the early stage, mean reflectance is quite low (only 12%, with CV=10.58% and delta reflectance = 10). Reflectance here is higher than in infected areas of the training set, clearly indicating the initial degradation stage.

At the middle stage of loose smut infection, reflectance in the healthy region decreases (mean to 24%) compared with the early stage and variability remains high (CV=14.82%). Infected areas at this stage become darker, bringing statistical indicators closer to the training set values (reflectance 9%, CV=11.29%) (Table 1, Figure 8).

The late stage is characterised by clear spectral differentiation of zones: the desiccated region exhibits homogeneous and stable indicators with a low coefficient of variation of 0.88% and a narrowed spectral range from 550 to 700 nm, which, combined with a moderate contrast value (0.214), indicates dried and fully necrotised tissues. Healthy areas retain some variability (CV=6.93%) (Tables 1, 2, Figure 8), remaining in close agreement with the reference. However, the overall reflectance value is somewhat reduced, which may indicate partial tissue degradation. Minimal variability and near-complete correspondence with training set indicators are characteristic of infected areas, confirming a stable pathological tissue state. Accordingly, the late stage serves as a clear example of the stabilisation of necrotic and infected zones, accompanied by a simultaneous decline in the functional activity of tissues considered conditionally healthy.

Machine learning

Machine learning was performed using the Maximum Entropy algorithm (Figure 9). The training set comprised 243 samples: 32 (13.2%) healthy and 211 (86.8%) loose smut-infected. 93.8% of the healthy samples and 89.1% of the loose smut-infected samples were correctly classified. A total of 10.3% of samples were assigned to "No class". The F1-score, which combines Precision and Recall into a single average metric and reflects the balance between the model's ability to find class objects without including extraneous ones, was 96.8% for healthy samples and 94.2% for *Ustilago nuda*-infected samples. The testing set, which included previously trained samples as well, totaled 595 samples (352 of which were new and unknown to the model): 79 (13.3%) healthy and 516 (86.7%) loose smut-infected. As a result, 93.7% of healthy samples and 87% of diseased samples were correctly classified. A total of 12.1% of samples were assigned to "No

class.” The F1-score was 96.7% for healthy samples and 93.1% for *Ustilago nuda* (Figures 9, 10).

In the training set, the proportion of correctly classified instances according to the Accuracy metric was 93.75% for healthy and 89.10% for infected samples. In the testing set, the results remained stable, with 93.67% for healthy and 87.02% for infected samples. Balanced Accuracy values reached 95.73% in the training set and 95.18% in the combined training and testing set. The high and stable values of this indicator demonstrate that the model effectively recognises both classes despite their imbalance. MCC values were 0.955 for the training set and 0.947 for the testing set. The virtually unchanged MCC values between the training and testing sets indicate good generalisation ability of the model and the absence of pronounced overfitting (Table 3).

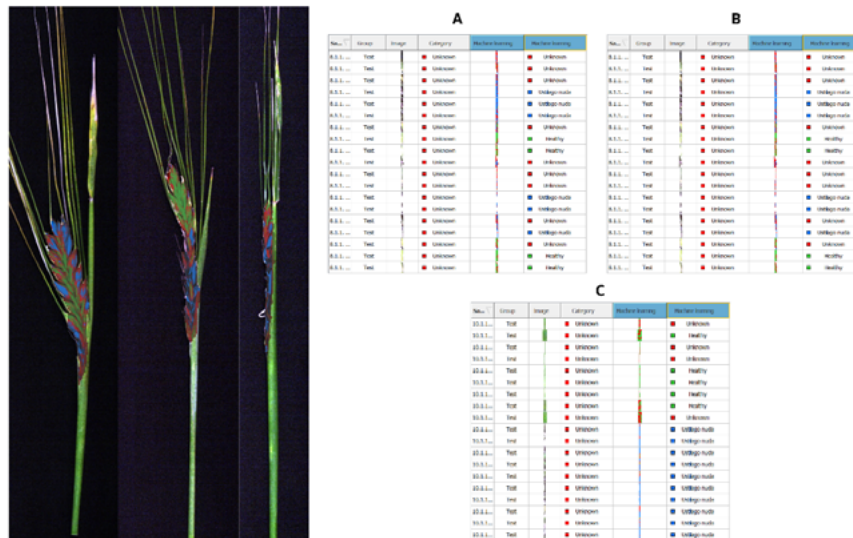


Figure 9. Results of machine learning using the Maximum Entropy algorithm (a - early stage, b - middle stage, c - late stage)

A				
Actual classes	Total	Healthy	Ustilago nuda	No class
Healthy	79 (13.3%)	74 (93.7%)		5 (6.32%)
Ustilago nuda	516 (86.7%)		449 (87%)	67 (13%)
# Predicted	595 (100%)	74 (12.4%)	449 (75.5%)	72 (12.1%)
Correctly	523 (87.9%)			
Incorrectly	72 (12.1%)			
Precision		100%	100%	
Recall		93.7%	87%	
F-score		96.7%	93.1%	

B				
Actual classes	Total	Healthy	Ustilago nuda	No class
Healthy	32 (13.2%)	30 (93.8%)		2 (6.25%)
Ustilago nuda	211 (86.8%)		188 (89.1%)	23 (10.9%)
# Predicted	243 (100%)	30 (12.3%)	188 (77.4%)	25 (10.3%)
Correctly	218 (89.7%)			
Incorrectly	25 (10.3%)			
Precision		100%	100%	
Recall		93.8%	89.1%	
F-score		96.8%	94.2%	

Figure 10. Confusion matrix (a - Training+Testing sets, b - Training set)

Table 3

Machine learning classification metrics: Maximum Entropy

Metrics	Healthy	<i>Ustilago nuda</i>	Average	Healthy	<i>Ustilago nuda</i>	Average
	Training set			Training+Testing sets		
Binary Accuracy	93,75	89,10	91,42	93,67	87,02	90,34
Balanced Accuracy	96,90	94,55	95,73	96,85	93,50	95,18
MCC	0,968	0,942	0,955	0,967	0,926	0,947

Discussion

Hyperspectral imaging enables the identification of pathogens based on their molecular structure. The dark colour of spores may be attributed to the presence of melanin-like pigments, as found in *Podospora anserina* [28], *Pestalotiopsis microspora* [29], and *Ustilago maydis* [30]. Melanin can protect fungal spores from ultraviolet radiation, enhance desiccation resistance, and reinforce the spore cell wall. Owing to their dark colouration, loose smut spores absorb more light than they reflect; consequently, the spectra of plant tissues infected by these fungi differ markedly, exhibiting reduced intensity. Healthy plant tissue exhibits high reflectance due to the green pigment chlorophyll and the reflectivity of the mesophyll, and the spectral curves of these areas differ clearly from those of tissues infected with loose smut. It was found that healthy plant curves exhibit a pronounced red edge at 700 nm, whereas the spectra of diseased areas lack distinct peaks and a red edge.

It was established that desiccated areas of infected plants also exhibit no pronounced red edge and appear as a spectral curve with a single high-reflectance peak. Data on the spectral differences among healthy, diseased, and desiccated areas are shown in Figure 11.

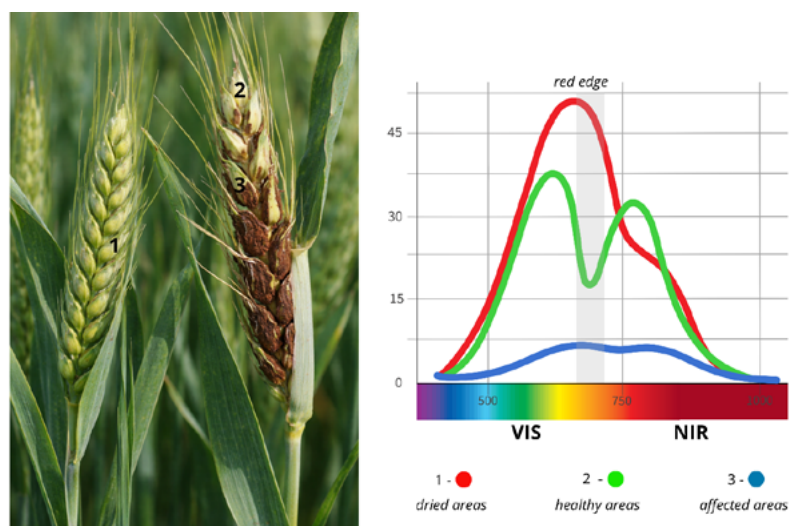


Figure 11. Spectral differences among healthy, infected, and desiccated barley tissues

The numerical spectral indicators obtained enable statistical substantiation of the differentiation among healthy, necrotised, and actively loose smut-infected tissues. These differences are governed by reflectance level, spectral bandwidth, and feature variability. Statistical analysis demonstrated that infected areas predominantly exhibit consistently low reflectance (5-6%, CV=3%), associated with high moisture content and pigment absorption under conditions of disrupted cellular structure. This signal is presumably largely stage-independent and may therefore serve as a reliable diagnostic marker. The reflectance level of desiccated tissues is characterised by high values (36-42%) and low variability (CV<3%), attributed to the dehydration process and the resulting strong scattering. The breakdown of individual cellular structures and pigments leads to spectral narrowing compared to the normal range, to approximately 600-700 nm. Healthy areas on infected plants exhibit signs of systemic stress and generally show intermediate reflectance values (22-32%). At early disease stages, a transient increase in reflectance may be observed, potentially associated with compensatory tissue activity.

Ustilago nuda develops gradually, and at early stages, changes in spectral characteristics may be subtle, complicating classification. High dimensionality and noise sensitivity lead to partial overlap of features from different classes. Meanwhile, the predominance of infected samples may influence decision boundaries; however, in this case, the effect is successfully compensated by the algorithm. The use of the Maximum Entropy algorithm, based on a probabilistic approach with regularization, enabled minimization of the imbalance effect, as confirmed by high Balanced Accuracy values. According to Binary and Balanced Accuracy metrics, the Maximum Entropy algorithm correctly accounts for class distribution and shows no pronounced bias toward the dominant class. High F1-score values indicate a balanced model with effective detection of infected samples. Notably, the slight decrease in this metric for infected plants is associated with the heterogeneity of *Ustilago nuda* disease manifestation, especially at early stages when spectral differences between classes are minimal. The increase in the proportion of uncertain classifications in the testing set may be due to overlapping spectral features between healthy and infected plants and the presence of intermediate physiological states. The higher accuracy for healthy samples, despite their underrepresentation, can be explained by the lower variability of their spectral characteristics. Healthy plants form a more homogeneous spectral profile, whereas infected samples exhibit a wide range of changes depending on the pathogen developmental stage and infection severity. The slight decrease in accuracy for infected samples in the testing set indicates the presence of challenging or borderline cases, which is typical for early plant disease diagnostics.

Since MCC is one of the most reliable quality metrics for binary classification with imbalanced data, the obtained values (~95%) indicate high agreement between model predictions and actual classes. It follows that infected zones are stable markers of active infection. Reflectance values for healthy tissues align with known data for cereals [31-33], and the typical contrast between low reflectance of infected tissues and high reflectance of necrotised tissues agrees with observations for other pathogens, though loose smut is characterised by particularly pronounced patterns [34]. Accordingly, the analysed statistical features can be used to develop methods for identifying barley smut using hyperspectral sensors.

Overall, the model demonstrated high effectiveness, with high classification accuracy and result reliability, robustness to class imbalance, and good generalisation ability. Despite a proportion of uncertain classifications, the model can be used for preliminary diagnosis of barley diseases. Further improvements in accuracy are possible through increasing the volume of balanced data and integrating ensemble and deep learning methods.

Conclusion

This study evaluated the effectiveness of hyperspectral imaging for identifying barley infection caused by loose smut (*Ustilago nuda*). It was established that hyperspectral data enable the detection of subtle changes in plant physiological state caused by infection development, even before pronounced morphological symptoms appear. Diseases accompanied by the formation of dark spores are characterised by reduced reflectance in the visible and near-infrared ranges and by spectral curves lacking a distinct red edge, which may serve as a diagnostic marker. The dark colouration of fungal plant diseases is driven by adaptations for spore dispersal and survival under agricultural field conditions. Based on spectral differences resulting from variations in pigment content between healthy and diseased tissues, a classification model was developed, achieving a detection accuracy of 95%. The application of the Maximum Entropy algorithm demonstrated high classification efficiency on both training and testing sets. The higher classification accuracy for healthy samples is associated with their lower spectral variability, whereas infected plants are characterised by heterogeneous features due to the different developmental stages of *Ustilago nuda*. The model exhibited high binary and balanced accuracy values, as well as a high F1-score, indicating its ability to correctly recognise both healthy and infected samples even under considerable class imbalance. The high Matthews Correlation Coefficient values confirm the reliability and robustness of the results.

Thus, the findings confirm the high diagnostic value of this approach for the early detection of phytopathogens. The study demonstrates that the application of hyperspectral imaging can enhance the efficiency of phytosanitary monitoring, enable early detection of barley loose smut, and reduce economic losses in agricultural production.

Author Contributions

U.R.M. - concept and supervision of the work; **O.A.V.** - discussion of the research results; **K.M.M.** - conducting the experiments; **Zh.M.A.** - writing the text; **Zh.S.B.** - editing the text of the article.

Funding

This research is funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP23485162 “Development of an innovative method for monitoring and early diagnosis of grain crop diseases using hyperspectral sensing technology”).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Compliance with ethical standards

This article does not contain a description of studies performed by the authors involving people or using animals as objects.

References

1. Moskovsky MN, Shogenov YH, Lavrov AV, Gulyaev AA, Efremenkov IY, Pyatchenkov DS, Belyakov MV. Spectral photoluminescent parameters of barley seeds (*Hordeum vulgare*) infected with *Fusarium* spp. *Photochemistry and Photobiology*. 2022;99(1). <https://doi.org/10.1111/php.13645>
2. Ferreira LDC, Carvalho ICB, Jorge LADC, Quezado-Duval AM, Rossato M. Hyperspectral imaging for the detection of plant pathogens in seeds: Recent developments and challenges. *Frontiers in Plant Science*. 2024;15:1387925. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1387925>
3. Xiong C., She Y., Jiao X., Zhang T., Wang M., Wang M., Abd El-Aty A.M., Wang J., Xiao M. Rapid nondestructive hardness detection of black highland barley kernels via hyperspectral imaging. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2024;127:105966. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105966>
4. Lohani UC, Divyanth LG, Singla D, Senthilkumar T, Singh CB. Comparative study of digital and hyperspectral imaging for varietal discrimination of dill seeds. *European Food Research and Technology*. 2026;252:41. <https://doi.org/10.1007/s00217-025-05024-1>
5. Trujillo HA, Velasquez Vasconez PA, Alves RM, Iost Filho FH, Gomes-junior FG.. Hyperspectral imaging and machine learning for assessing germination of hydroprimed lettuce seeds. *Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty*. 2026;23:56-100. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1586666>
6. Sendin K, Williams PJ, Manley M. Near infrared hyperspectral imaging in quality and safety evaluation of cereals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58:575-590. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1205548>
7. An D, Zhang L, Liu Z, Liu J, Wei Y. Advances in infrared spectroscopy and hyperspectral imaging combined with artificial intelligence for detection of cereal quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(29):9766-9796. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2066062>
8. Liang Y, Li Z, Shi J, Zhang N, Qin Z, Du L, Zhai X, Shen T, Zhang R, Zou X, Huang X. Advances in hyperspectral imaging technology for grain quality and safety detection: A review. *Foods*. 2025;14:2977. <https://doi.org/10.3390/foods14172977>
9. Grieco M, Schmidt M, Warnemünde S, Backhaus A, Klück HC, Garibay A, Tandrón Moya YA, Jozefowicz AM, Mock HP, Seiffert U, Maurer A, Pillen K. Dynamics and genetic regulation of leaf nutrient concentration in barley based on hyperspectral imaging and machine learning. *Plant Science*. 2022;315:111123. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111123>
10. Femenias A, Gatiús F, Ramos AJ, Teixido-Orries I, Marín S. Hyperspectral imaging for the classification of individual cereal kernels according to fungal and mycotoxins contamination: A review. *Food Research International*. 2022;155:111102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111102>
11. Sun H, Zhang L, Rao Z, Ji H. Determination of moisture content in barley seeds based on hyperspectral imaging technology. *Spectroscopy Letters*. 2020;53(10):751-762. <https://doi.org/10.1080/00387010.2020.1832531>
12. Wu N, Jiang H, Bao Y, Zhang C, Zhang J, Song W, Zhao Y, Mi C, He Y, Liu F. Practicability investigation of using near-infrared hyperspectral imaging to detect rice kernels infected with rice false smut in different conditions. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020;308:127696. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127696>
13. An G, Xing M, He B, Kang H, Shang J, Liao C, Huang X, Zhang H. Extraction of areas of rice false smut infection using UAV hyperspectral data. *Remote Sensing*. 2021;13(16):3185. <https://doi.org/10.3390/rs13163185>

14. Bao D, Zhou J, Bhuiyan SA, Adhikari P, Tuxworth G, Ford R, Gao Y. Early detection of sugarcane smut and mosaic diseases via hyperspectral imaging and spectral-spatial attention deep neural networks. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2024;18:101369. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101369>
15. Thomas S, Behmann J, Steier A, Kraska T, Muller O, Rascher U, Mahlein AK. Quantitative assessment of disease severity and rating of barley cultivars based on hyperspectral imaging in a non-invasive, automated phenotyping platform. *Plant Methods*. 2018;14:45. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0313-8>
16. McGoverin CM, Engelbrecht P, Geladi P, Manley M. Characterisation of non-viable whole barley, wheat and sorghum grains using near-infrared hyperspectral data and chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011;401:2283-2289. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5291-x>
17. Wan L, Li H, Li C, Wang A, Yang Y, Wang P. Hyperspectral sensing of plant diseases: Principle and methods. *Agronomy*. 2022;12:1451. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061451>
18. Singh T, Sharma A, Garg NM, Iyengar SRS. Near-Infrared Hyperspectral Imaging in Tandem with Machine Learning Techniques to Identify the Near Geographical Origins of Barley Seeds. In: Tistarelli, M., Dubey, S.R., Singh, S.K., Jiang, X. (eds) *Computer Vision and Machine Intelligence. Lecture Notes in Networks and Systems*. 2023; 586. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7867-8_53
19. Sun T, Xu M, Jin Z. Grain geometry matters: Hyperspectral imaging challenges for moisture detection in individual kernels of barley. *Journal of Cereal Science*. 2026;127:104352. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2025.104352>
20. Caporaso N, Whitworth MB, Fisk ID. Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging for non-destructive quality assessment of cereal grains. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2018;53:667-687. <https://doi.org/10.1080/05704928.2018.1425214>
21. Sun H, Zhang L, Li H, Rao Z, Ji H. Nondestructive identification of barley seed varieties using hyperspectral data from two sides of barley seeds. *Journal of Food Process Engineering*. 2021;44:e13769. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13769>
22. Terentev A, Kuznetsova D, Fedotov A, Baranova O, Eremenko D. Cross-crop transferability of machine learning models for early stem rust detection in wheat and barley using hyperspectral imaging. *Plants*. 2025;14:3265. <https://doi.org/10.3390/plants14213265>
23. Chossegros M, Hubbard A, Burt M, Harrison RJ, Nellist CF, Grinberg NF. Hyperspectral image analysis for classification of multiple infections in wheat. *Plant Methods*. 2025;21:144. <https://doi.org/10.1186/s13007-025-01461-x>
24. Zhou RQ, Jin JJ, Li QM, Su ZZ, Yu XJ, Tang Y, Luo SM, He Y, Li XL. Early detection of Magnaporthe oryzae-infected barley leaves and lesion visualization based on hyperspectral imaging. *Frontiers in Plant Science*. 2019;9:1962. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01962>
25. Polyakov IYa, Persov MP, Smirnov VA. Forecasting the development of agricultural crop pests and diseases (with practical exercises). Leningrad: Kolos; 1984. p. 318.
26. State Standard 12044-93. Methods for determining disease contamination. Moscow: Standartinform; 2011. p. 57.
27. Ökmen B, Schwammbach D, Bakkeren G, Neumann U, Doehlemann G. The *Ustilago hordei* - Barley Interaction is a Versatile System for Characterization of Fungal Effectors. *Journal of Fungi*. 2021;7(2):86. <https://doi.org/10.3390/jof7020086>
28. Gautier V, Levert E, Giraud T, Silar P. Important role of melanin for fertility in the fungus *Podospira anserina*. G3: Genes, Genomes, Genetics. 2021;11(8):jkab159. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab159>

29. Yu X, Huo L, Liu H, Chen L, Wang Y, Zhu X. Melanin is required for the formation of multicellular conidia in the endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora*. *Microbiological Research*. 2015;179:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.06.004>
30. Reyes-Fernández EZ, Shi Y-M, Grün P, Bode HB, Bölker M. An unconventional melanin biosynthesis pathway in *Ustilago maydis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2021;87:e01510-20.. <https://doi.org/10.1128/AEM.01510-20>
31. Khan IH, Liu H, Li W, Cao A, Wang X, Liu H, Cheng T, Tian Y, Zhu Y, Cao W, Yao X. Early detection of powdery mildew disease and accurate quantification of its severity using hyperspectral images in wheat. *Remote Sensing*. 2021;13:3612. <https://doi.org/10.3390/rs13183612>
32. Yao Z, Lei Y, He D. Early visual detection of wheat stripe rust using visible/near-infrared hyperspectral imaging. *Sensors*. 2019;19:952. <https://doi.org/10.3390/s19040952>
33. Lim J, Kim G, Mo C, Oh K, Kim G, Ham H, Kim S, Kim MS. Application of near infrared reflectance spectroscopy for rapid and non-destructive discrimination of hulled barley, naked barley, and wheat contaminated with *Fusarium*. *Sensors*. 2018;18:113. <https://doi.org/10.3390/s18010113>
34. Ualiyeva RM, Kaverina MM, Osipova AV, Kairbayev YB, Zhangazin SB, Iksat NN, Mapitov NB. VNIR hyperspectral signatures for early detection and machine-learning classification of wheat diseases. *Plants*. 2025;14:3644. <https://doi.org/10.3390/plants14233644>

Машиналық оқыту әдістері негізінде арпаның тозаңды қарақүйесін дамудың әртүрлі кезеңдерінде анықтауда гиперспектральды визуализацияны қолдануды зерттеу

**Р.М. Уалиева¹, А.В. Осипова², М.М. Каверина^{*3},
М.Ә. Жақсыбек⁴, С.Б. Жангазин⁵**

^{1,2,3,4}Торайғыров университеті, Павлодар, Қазақстан

⁵Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

Аңдатпа. Мақалада машиналық оқыту әдістерін қолдана отырып, аурудың дамуының әртүрлі кезеңдерінде арпаның *Ustilago nuda* қоздырғышымен зақымдануын анықтау үшін гиперспектральды визуализацияның мүмкіндіктері зерттелген. Зерттеу нысаны ретінде Павлодар облысының солтүстік-шығысындағы агроценоздардан іріктеліп алынған арпа үлгілері (*Hordeum vulgare* L.) пайдаланылды. Спектрлік сипаттамаларды талдау өсімдіктердің сау, зақымданған және құраған бөліктері арасындағы елеулі айырмашылықтарды көрсетті, соның ішінде шағылысу қабілетінің төмендеуі және зақымданған тіндерде айқын red edge аймағының болмауы анықталды. Жіктеу үшін Maximum Entropy алгоритмі қолданылды. Оқыту жиынтығына 243 үлгі, ал тестілеу жиынтығына санаттар арасындағы айқын теңгерімсіздігі бар 352 үлгі енгізілді. Модель 95%-ға дейін жоғары жіктеу дәлдігін көрсетті. Алынған нәтижелер гиперспектральды визуализацияны машиналық оқыту әдістерімен бірге қолданудың ауруды диагностикалауда және оның дамуын, соның ішінде ерте кезеңдерде, мониторингілеуде тиімді екенін растады. Бұл тәсіл фитосанитарлық бақылаудың тиімділігін арттыру және астық өндірісінің тұрақты дамуын қамтамасыз ету мақсатында дәлме-дәл егіншілік жүйелерінде қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: гиперспектральды визуализация, тозаңды қарақүйе, арпа, агроценозды бақылау, ауру кезеңдері.

**Изучение применения гиперспектральной визуализации
для идентификации пыльной головки ячменя на разных стадиях
развития с использованием методов машинного обучения**

Р.М. Уалиева¹, А.В. Осипова², М.М. Каверина^{*3}, М.Э. Жақсыбек⁴, С.Б. Жангазин⁵

^{1,2,3,4}Торайғыров университет, Павлодар, Казахстан

⁵Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Аннотация. В статье представлено исследование возможностей гиперспектральной визуализации для идентификации поражения ячменя *Ustilago nuda* на различных стадиях развития заболевания с применением методов машинного обучения. Объектом исследования выступали образцы ячменя (*Hordeum vulgare* L.), отобранные в агроценозах северо-востока Павлодарской области. Анализ спектральных характеристик показал существенные различия между здоровыми, поражёнными и высохшими участками растений, включая снижение отражательной способности и отсутствие выраженного red edge у инфицированных тканей. Для классификации использован алгоритм Maximum Entropy. Обучающая выборка включала 243 образца, тестовая - 352 образца с выраженным дисбалансом классов. Модель показала высокую точность классификации до 95%. Полученные результаты подтверждают эффективность гиперспектральной визуализации в сочетании с машинным обучением для диагностики заболевания и мониторинга его развития в том числе на ранней стадии, что может быть использовано в системах точного земледелия для повышения эффективности фитосанитарного контроля и устойчивого развития зернопроизводства.

Ключевые слова: гиперспектральная визуализация, пыльная головня, ячмень, мониторинг агроценозов, стадии болезни.

Authors' information:

Ualiyeva Rimma Meyramovna – PhD, Professor of the Department of Biology and Ecology, Toraighyrov University, 64 Lomov St., 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Osipova Anastasiya Vyacheslavovna – Master's degree student, Department of Biology and Ecology, Toraighyrov University, 64 Lomov St., 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Kaverina Mariya Mikhailovna – Corresponding author, Junior Researcher at the Department of Biology and Ecology, Toraighyrov University, 64 Lomov St., 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Zhaksybek Meruyert Adilbekkyzy – PhD student of the Department of Biology and Ecology, group DB-12/2, Toraighyrov University, 64 Lomov St., 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Zhangazin Sayan Berikovich – PhD, Associate Professor, Deputy Dean for Research of the Faculty of Natural Sciences, L.N. Gumilyov, Eurasian National University, 2 Satpayev St., 010008, Astana, Kazakhstan.

Авторлар туралы мәлімет:

Уалиева Римма Мейрамовна – PhD, «Биология және экология» кафедрасының профессоры, «Торайғыров университеті» КеАҚ, Ломов көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Осипова Анастасия Вячеславовна – «Биология және экология» кафедрасының магистранты, «Торайғыров университеті» КеАҚ, Ломов көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Каверина Мария Михайловна – хат-хабар авторы, «Биология және экология» кафедрасының кіші ғылыми қызметкері, «Торайғыров университеті» КеАҚ, Ломов көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Жақсыбек Меруерт Әділбекқызы – ДБ-12/2 тобының докторанты, «Биология және экология» кафедрасы, «Торайғыров университеті» КеАҚ, Ломов көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Жангазин Саян Берикович – PhD, қауымдастырылған профессор, Жаратылыстану ғылымдары факультеті деканының ғылыми жұмыс жөніндегі орынбасары, «Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті» КеАҚ, Сәтбаев көшесі 2, 010008, Астана, Қазақстан.

Сведения об авторах:

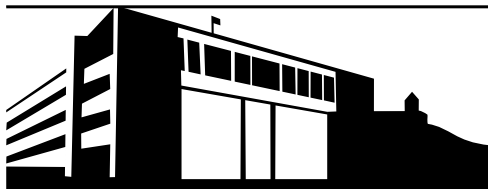
Уалиева Римма Мейрамовна - PhD, профессор кафедры биологии и экологии, НАО «Торайгыров университет», ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Осипова Анастасия Вячеславовна - магистрант кафедры биологии и экологии, НАО «Торайгыров университет», ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Каверина Мария Михайловна - автор-корреспондент, младший научный сотрудник кафедры биологии и экологии, НАО «Торайгыров университет», ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Жақсыбек Меруерт Әділбекқызы - докторант группы ДБ-12/2 кафедры биологии и экологии, НАО «Торайгыров университет», ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Жангазин Саян Берикович - PhD, ассоциированный профессор, заместитель декана по научной работе факультета естественных наук, НАО «Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева», ул. Сатпаева, 2, 010008, Астана, Казахстан.



ИРСТИ 34.29.35
Научная статья

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-57-74>

Редкие сообщества типчаково-ковыльных степей окрестностей озера Шалкар

Т.Е. Дарбаева¹, Б.С. Альжанова², Г.С. Кайсагалиева³,
А.Н. Сарсенова⁴, С.Н. Бохорова^{*5}

^{1,2,3,4,5} Запдно-Казахстанский университет имени Махамбета Утемисова, Уральск, Казахстан

E-mail: ¹dtalshen@mail.ru, ²aljanb@mail.ru, ³gusm_@mail.ru,
⁴assemgulsarsenova@gmail.com, ^{*5}svetlanabohorova@gmail.com

Аннотация. В статье представлены результаты исследований редких сообществ типчаково-ковыльных степей окрестностей озера Шалкар в пределах Западно-Казахстанской области. На изучаемой территории нами было выделено 11 редких растительных сообществ, которые классифицированы по трем основным категориям: 1) редкие растительные сообщества, характерные только для Заволжско-Казахстанской провинции, где доминантами являются редкие, реликтовые виды *Anthemis troztkiana* и *Anabasis cretacea*; 2) редкие коренные зональные сообщества, испытывающие наибольшее антропогенное воздействие; 3) редкие локальные сообщества, приуроченные к специфическим условиям местообитания. Отмеченные редкие растительные сообщества имеют ключевое значение для поддержания биоразнообразия, устойчивости степной зоны и свидетельствуют о древнем генезисе сообществ и их рефугиальном характере.

Ключевые слова: Западный Казахстан, озеро Шалкар, типчаково-ковыльные степи; редкое растительное сообщество, реликтовые и эндемичные виды, коренные зональные сообщества

Введение

Разнообразие растительных сообществ в пределах широтно-зональных типов степей неоднократно отмечалось в работах отечественных и зарубежных ботаников [1-3].

Изучаемый район относится к Евразийской степной области, Причерноморско-Казахстанской подобласти, Заволжско-Казахстанской степной провинции Зауральско-Тургайской (Западно-Казахстанской) подпровинции, где проходят три подзоны типчаково-ковыльных степей: 1) разнотравно-дерновинно-злаковых степей; 2) сухих дерновинно-злаковых степей; 3) полынно-дерновинно-злаковых опустыненных степей (Рисунок 1а).

Поступила: 18.03.2026. Одобрена: 18.06.2026. Доступна онлайн: 30.06.2026

*Автор-корреспондент

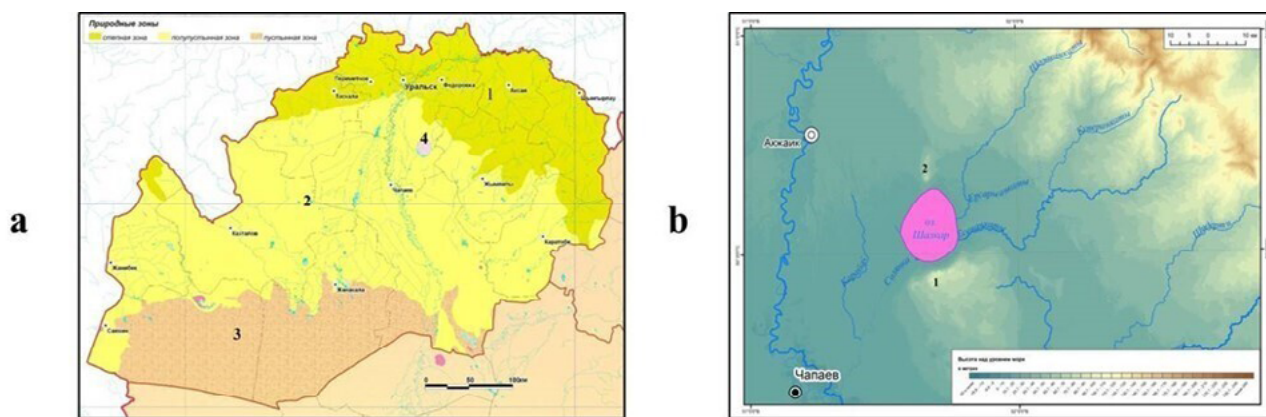


Рисунок 1. а) Природные зоны Западно-Казахстанской области: 1 – Сухие дерновинно-злаковые степи; 2 – Полынно-дерновинно-злаковые опустыненные степи; 3 – полынно-биюргуновыи пустыни; 4 – озеро Шалкар; б) Окрестности озера Шалкар: 1 – гора Сасай; 2 – гора Сантас.

Типчаково-ковыльные степи в окрестностях солёного озера Шалкар относятся к коренным зональным и подзональным сообществам опустыненных степей и формируются преимущественно на каштановых почвах в комплексе с солонцами, а интразональная растительность представлена галофитным разнотравьем, которое произрастает на сорах, солончаках и обнажившемся дне озера Шалкар.

Почвенный покров степных экосистем характеризуется высокой комплексностью и пестротой: здесь встречаются супеси, легкие суглинки, песчано-щебнистые, а также кальциефитные, солонцеватые и солончаковатые почвы [4, 5].

Целью настоящего исследования является выявление и характеристика некоторых редких растительных сообществ типчаково-ковыльных степей в окрестностях озера Шалкар.

Материалы и методы исследования

В основу настоящего исследования положены материалы многолетних исследований, выполненных авторами в окрестностях озера Шалкар в 1994-2025 гг. [6-8].

Полевые исследования, флористическое описание и выделение сообществ проводили в соответствии с классическими геоботаническими методами [9]. Названия видов сосудистых растений приведены в соответствии со сводкой С.К. Черепанова [10], с уточнением номенклатуры по данным международной электронной базы Plants of the World Online (<https://powo.science.kew.org/>) [11]. Список флоры составлен в соответствии с системой А.Л.Тахтаджяна [12]. При определении редких видов растений учитывались сведения об их включении в Красную книгу Республики Казахстан [13], в «Перечень редких и исчезающих видов растений Казахстана» [14], в «Перечень эндемичных и реликтовых растений» [15], а также в перечень эндемичных локальных и реликтовых видов, приведенным по данным В.В. Иванова [16] и в «Зеленой книге Западно-Казахстанской области» [17].

При оценке редкости растительных сообществ использовался фитоценотический подход, согласно которому сообщества рассматривались как самостоятельные объекты охраны. Для каждого сообщества приведены приуроченность к определённым специфическим условиям местообитания, форма участия в фитоценозе, биоморфологическая,

географическая и фитоценотическая структура, мотивы охраны и основные дестабилизирующие факторы. Биоморфологический анализ проведен по Серебрякову [18]. При анализе географической структуры (в широтном направлении) мы придерживались точки зрения А.Л.Тахтаджян (1970) и А.И.Толмачева (1974) [19, 20]. Для составления эколого-фитоценотической характеристики использованы общепринятые методики, разработанные Б.А.Быковым [21]. Приоритетная значимость сообществ определялась присутствием в их составе редких, эндемичных и исчезающих видов, а также уникальностью и уязвимостью самих сообществ.

Результаты

Изучаемая территория характеризуется высокой природной и ландшафтной неоднородностью: охватывает часть Прикаспийской низменности с абсолютными отметками от 13 до 50 м над уровнем моря, солянокупольные поднятия Сантас (71 м) и Сасай (94 м), озеро Шалкар (длина около 18 км, ширина до 14 км, средняя площадь около 200 км², максимально глубина 12 м, минерализация 2,9–6,7 г/л, притоки реки Есен-Анкаты и Чулак-Анкаты, сток р. Солянка), а также солончаки, соры и депрессии окрестности озера Шалкар (Рисунок 1б) Значительная часть территории исследования представлена равнинами Прикаспийской низменности. В исследуемом районе наблюдается сейсмическая активность [22].

На протяжении последних 30 лет и особенно в последнее десятилетие наблюдается устойчивая тенденция к сокращению акватории озера Шалкар. Так, в 1984 году площадь водной поверхности озера составляла 216,3 км², а в 2022 году она сократилась до 173,1 км², при исторически максимальном значении в 240 км². Можно отметить, что даже обильный паводок 2024 г. существенно не повлиял на уровень воды в озере. В итоге прибрежная зона отодвинулась на 650–800 м., обнажив засоленное дно. При этом на обнажившемся дне озера в настоящее время идет процесс восстановления почвенно-растительного покрова [8].

Кальциефитно-петрофитная растительность солянокупольных поднятий Сасая и Сантаса резко контрастирует с окружающей равнинной степной растительностью и четко выделяется физиономически. Солянокупольные поднятия, а также освободившееся дно озера Шалкар представляют собой важные центры формирования и концентрации самобытной флоры, комплексной растительности с доминированием сохранившихся реликтовых, краснокнижных и редких сообществ с петрофитно-кальциефитными, галофитными комплексами.

Сохранению и охране редких и уникальных растительных сообществ, посвящен ряд научных работ, в которых выделены подходы и критерии к оценке степени редкости сообществ и необходимости их охраны [23–27].

На основе выделенных подходов и критериев, исследуемые растительные сообщества типчаково-ковыльных степей в окрестностях озера Шалкар были подразделены на следующие категории: А. Редкие растительные сообщества, характерные только для Заволжско-Казахстанской провинции; Б. Редкие коренные зональные сообщества, испытывающие антропогенное воздействие; В. Редкие локальные сообщества, приуроченные к специфическим условиям местообитания. Ниже мы приводим описание редких сообществ.

А. Редкие растительные сообщества, характерные только для Заволжско-Казахстанской провинции.

В эту группу относятся сообщества, распространенные в Заволжско-Казахстанской провинции в целом и в отдельных ее подпровинциях. На открытых хорошо прогреваемых меловых склонах и плато г. Сантас распространены сообщества с участием кальцеифитных и петрофитных видов, которые представляют наибольший интерес в ботанико-географическом отношении.

1. Мятликово-пупаковое сообщество (*Poa bulbosa* + *Anthemis trotzkiana*) приурочено к коренным меловым останцам, в основном на плато и в верхних частях меловых склонов г. Сантас. Общее проективное покрытие травостоя – 20-30%. (Рисунок 2а).

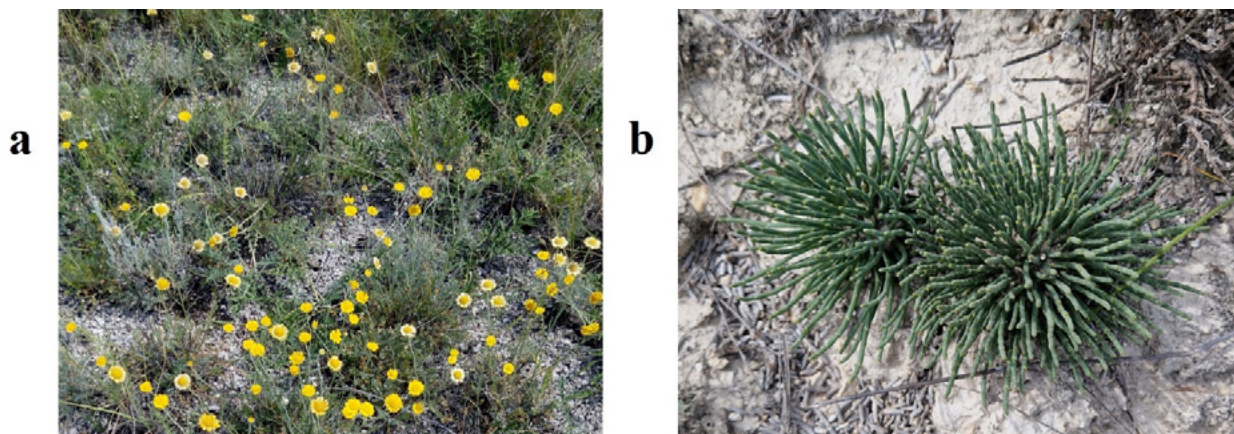


Рисунок 2. Сообщества на меловых останцах: а) *Anthemis trotzkiana*. Цветущее растение. б) *Anabasis cretacea*. Вегетирующее растение.

Флористический состав включает 15 видов высших сосудистых растений, относящихся к 15 родам и 8 семействам. Доминируют виды семейства Poaceae, Asteraceae и Chenopodiaceae. В составе флоры отмечено 9 жизненных форм, из которых доминируют полудревесные (8 видов; 53,3%), представленные преимущественно полукустарничками (*Artemisia lessingiana*, *A. salsoloides*, *Camphorosma monspeliaca*). В фитоценоотическом спектре преобладают степные виды (13; 86,7%). Основу флоры составляет виды древнесредиземноморского (6 видов; 40%), туранского (5; 33,3%), голарктического (3; 20%) и европейского (1; 6,7%) географических типов ареала. Древнесредиземноморские виды представлены преимущественно злаками (*Stipa capillata*, *Leymus ramosus*, *Poa bulbosa* и др.). Состояние сообщества – удовлетворительное.

В составе сообщества присутствуют нижневолжско-приуральский реликт (*Artemisia salsoloides*), арало-каспийские реликты (*Anabasis cretacea*, *Matthiola fragrans*), локальные эндемики – нижневолжско-прикаспийский (*Artemisia lessingiana*) и нижневолжский (*Anthemis trotzkiana*), а также виды, включенные в Красную книгу Казахстана (*Anthemis trotzkiana* и *Lepidium meyeri*). Такое участие реликтового и эндемичного (включая локальные эндемики) компонентов позволяет выделить растительное сообщество меловых обнажений горы Сантас в категорию эндемичных фитоценозов, специфичных для Заволжско-Казахстанской провинции.

2. Житняково-ежовниковое сообщество (*Agropyron desertorum* + *Anabasis cretacea*) встречается в верхней части меловых склонов г. Сантас. Общее проективное покрытие 15-20% (Рисунок 2b).

В сообществе отмечено 15 видов, относящихся к 15 родам и 9 семействам. Наибольшее разнообразие характерно для семейства Asteraceae. Основу флоры составляют полу-древесные виды (9 видов; 60%), среди которых доминируют полукустарники (*Anthemis trotzkiana*, *Ephedra distachya*, *Lomelosia isetensis*) и полукустарнички (*Artemisia lessingiana*, *Lepidium meyeri*, *Jurinea kirghisorum* и др.). Преобладают степные виды (93,3%).

Географический анализ показывает наличие 5 типов ареалов. Преобладают голарктические, древнесредиземноморские и туранские виды (по 4 вида; 26,7%), далее следует европейские (2; 13,3%) и средиземноморские (1; 6,6%) виды. Среди голарктических видов наиболее типичными являются понтическо-заволжско-казахстанский (*Lepidium meyeri*) и заволжско-казахстанский (*Lomelosia isetensis*) виды. Древнесредиземноморское ядро формируют *Agropyron desertorum*, *Atraphaxis spinose*, *Ephedra distachya* и др. Сообщество испытывает сильное антропогенное воздействие, в результате площадь его распространения заметно сокращается, что в дальнейшем может привести к деградации и полному его исчезновению.

В исследуемом сообществе выявлены арало-каспийский реликт (*Anabasis cretacea*) и нижневолжский (*Anthemis trotzkiana*) и локальный прикаспийский Сыртово-Подуральский (*Jurinea kirghisorum*) эндемики и *Lepidium meyeri* – вид занесённый в Красную книгу Республики Казахстан (2014). Таким образом, участие эндемичных, локально-эндемичных, субэндемичных и реликтовых и краснокнижных видов в структуре сообщества, свидетельствует о его высокой природоохранной ценности и позволяет классифицировать его как эндемичный ценоз, специфичный для Заволжско-Казахстанской провинции.

Б Редкие коренные зональные сообщества, испытывающие антропогенное воздействие сохранились фрагментарно и характеризуются высокой степенью нарушенности. К данной категории относятся типичные зональные сообщества с участием локальных реликтов, редких и уязвимых видов, прежде всего, находящихся на границах своих ареалов. В верхних частях и южных склонах г. Сантас сформированы ксерофильные лессингополынные сообщества. На пологих склонах гор Сантас и Сасай господствуют типчаково-ковыльные степи с доминированием степных злаков (*Agropyron pectinatum*, *Festuca valesiaca*, *Stipa capillata*, *S. Lessingiana* и др). В межгрядовых понижениях и балках развиты кустарниковые заросли из *Spiraea crenata*, *Caragana frutex*, *Amygdalus nana* с участием *Elaeagnus angustifolia* и *Rhamnus cathartica*. По периферии соров и глубоких депрессий доминируют сообщества с участием *Neotrinia splendens* и *Nitraria schoberi*. На корковых солонцах распространены чернополынные, камфоросмовые, прутняковые, биюргуновые и кокпековые сообщества.

3. Лессингополынное сообщество (*Artemisia lessingiana*) отмечено в верхних щебнистых частях меловых склонов г. Сантас. Общее проективное покрытие 40-50% (Рисунок 3a).

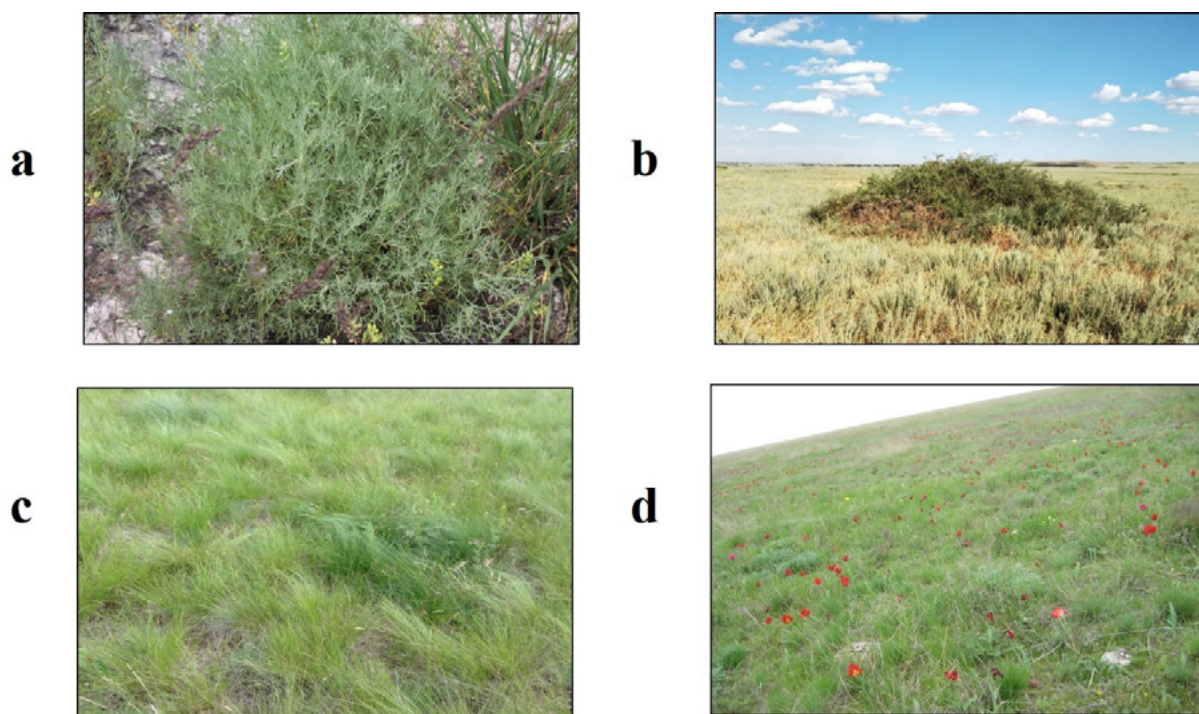


Рисунок 3. Коренные зональные сообщества: а) *Artemisia lessingiana*. Веретирующее растение. б) *Nitraria schoberi*. Веретирующее растение. в) *Stipa lessingiana*. Веретирующее растение. г) Аспект тюльпана (*Tulipa suaveolens*).

Во флористическом составе отмечено 19 видов, относящихся к 18 родам и 10 семействам. Преобладают представители семейства Asteraceae (5 видов; 26,3%); остальные семейства представлены 1-2 видами. Биоморфологический анализ показал преобладание многолетних травянистых поликарпиков (11 видов; 57,8%) и полукустарничков (4; 21,1%). Географический анализ выявил присутствие 5 типов ареала: древнесредиземноморского (9 видов; 47,4%), туранского (4; 21%), европейского (3; 15,8%), голарктического (2; 10,5%) и средиземноморского (1; 5,3%). Среди древнесредиземноморских видов ведущее положение занимают как кальцеифиты (*Ephedra distachya*, *Limonium suffruticosum*, *Psathyrostachys juncea* и др.), так и степные злаки (*Agropyron desertorum*, *Poa bulbosa*, *Stipa capillata* и др.). Анализ фитоценотической структуры выявил доминирование степных видов (18; 94,7%). Состояние сообщества – удовлетворительное.

В данном сообществе отмечены нижеволжский эндемик (*Anthemis trotzkiana*), арало-каспийские реликты (*Anabasis cretacea*, *Matthiola fragrans*), заволжско-казахстанские субэндемики (*Lomelosia isetensis*, *Echinops meyeri*), облигатные кальцеифиты (*Psephellus carbonatus* и *Astragalus tauricus*), а также *Artemisia lessingiana*, который является локальным нижеволжско-прикаспийским эндемиком Северного Прикаспия [28]. Уникальное сочетание в составе фитоценоза эндемичных, локально-эндемичных, субэндемичных, реликтовых видов и облигатных кальцеифитов позволяет впервые выделить данное сообщество для территории Западно-Казахстанской области.

4. Селитряно-лерхопопынное сообщество (*Artemisia lerceana* + *Nitraria schoberi*) отмечено на плато горы Сасай, а также на равнинных солончаковых участках и солонцах, по периферии соров и депрессий, включая краевые участки обнажившегося дна озера Шалкар. Общее проективное покрытие 40-50% (Рисунок 3б).

Флористический состав включает 23 вид относящихся к 22 родам и 11 семействам. Доминируют представители семейств Poaceae (6 видов; 26,1%), Asteraceae (4 вида; 17,4%), Brassicaceae и Fabaceae (по 2 вида; 8,7%). Остальные семейства представлены одним видом. Преобладают плотнoderновинные и короткокорневищные виды (8; 34,8 %). Значительная доля однолетних и сорных растений (6; 26,1 %) свидетельствует о пастбищной дигрессии. В фитоценоотическом спектре доминируют степные виды (19 видов; 82,6 %). В географическом спектре выделено 6 типов ареалов: древнесредиземноморский (9; 39,1%), голарктический (5; 21,7%), европейский (5; 21,7%), плурирегиональный (2; 8,7%), туранский (1; 4,4%) и средиземноморский (1; 4,4%). Состояние сообщества – удовлетворительное.

Научная и природоохранная значимость сообщества определяется присутствием *Nitraria schoberi*, находящегося на северной границе своего ареала и *Ornithogalum fischerianum*, занесенного в Красную книгу Республики Казахстан (2014).

5. Подмаренниково-ковыльковое сообщество (*Stipa lessingiana* + *Galium ruthenicum*) является естественным эталоном степей, ранее занимавших значительные территории, однако в настоящее время сохранившихся лишь фрагментарно. Общее проективное покрытие 60-70% (Рисунок 3с, 3d).

Отмечено присутствие 26 видов, относящихся к 23 родам и 13 семействам. Доминирующим семейством является Asteraceae (7 видов, 26,9%), Poaceae (5 видов, 19%). В биоморфологическом спектре отмечено 11 жизненных форм, среди них преобладают плотнoderновинные злаки (8 видов; 30,8%), которые являются основными эдификаторами данного сообщества. Первое место по численности занимают виды, относящиеся к голарктическому типу ареала (8; 30,8%). Вторым по численности видов является древнесредиземноморский тип ареала (7; 26,9%). Среди европейских типов ареала часто встречаются понтические виды (*Galatella villosa*, *Euphorbia uralensis*, *Limonium sareptanum* и др.). Степные виды (21; 80,8%) в основном представлены семейством Asteraceae (27%), из них более заметны *Artemisia austriaca*, *Centaurea scabiosa*, *Jurinea multiflora*. Отмечается сокращение площади данного сообщества под воздействием антропогенных и природных факторов.

Значимость сообщества определяется тем, что оно является естественным эталонным сообществом региона, которое находится на грани исчезновения. Кроме того, данное сообщество имеет значение как местообитание редких и охраняемых видов растений (*Tulipa biebersteiniana* и *T. suaveolens*).

6. Полынно-чиевое сообщество (*Artemisia austriaca* + *Neotrinia splendens*) является регионально редким и приурочено к подошвам солянокупольных и меловых обнажений, а также встречается в долинах рек, староречьях, меловых оврагах и балках. Общее проективное покрытие 40-50% (Рисунок 4а).

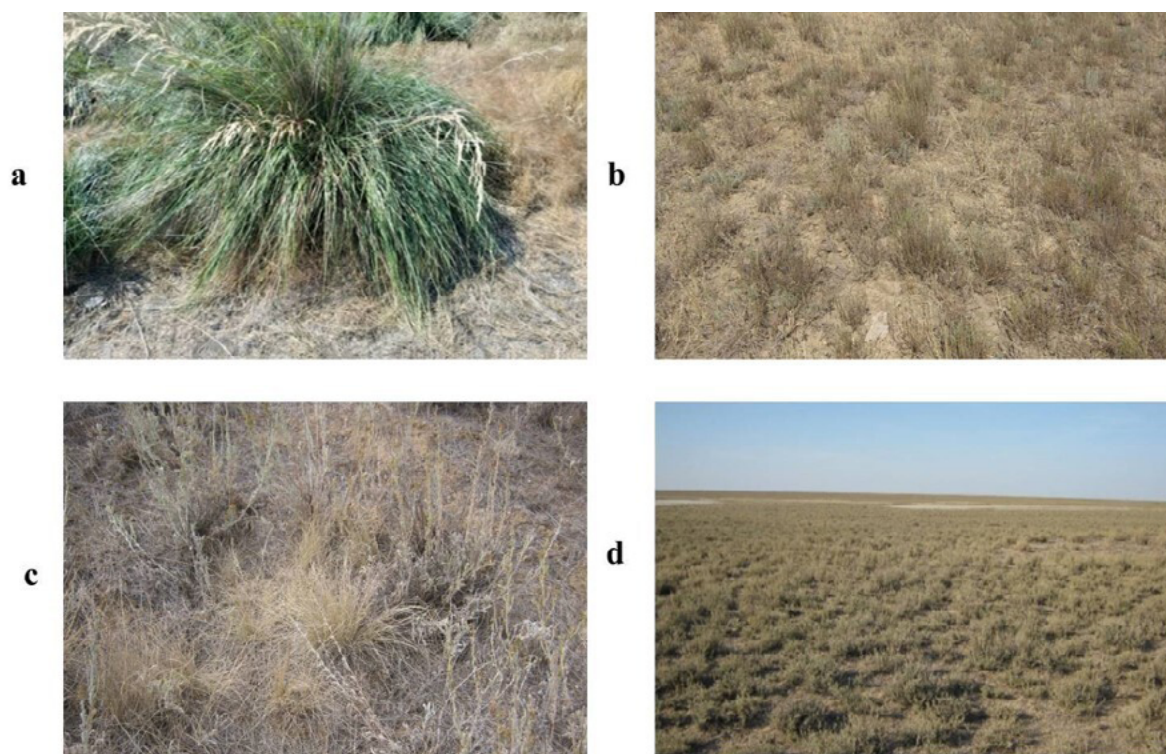


Рисунок 4. Коренные зональные сообщества: а) *Neotrinia splendens*. Заросли цветущих растений. б) Камфоросмово-чернополынное сообщество. в) Мятликово-лерхополынное сообщество. г) *Atriplex cana*. Участок комплексной степи.

Во флористическом составе представлены 19 видов, относящихся к 19 родам и 9 семействам. Ведущую роль играют представители семейства Poaceae с различной экологической амплитудой и включающие как ксерофиты (*Agropyron pectinatum*, *Poa bulbosa*, *Neotrinia splendens*), так и мезофиты (*Bromopsis inermis*, *Elytrigia repens*) и др. Преобладают стержнекорневые виды (*Gypsophila paniculata*, *Medicago falcata*, *Rumex confertus* и др.), остальные группы слабо представлены. Доминируют степные 12 (63%) и луговые 4 (21,1%) виды. Географический спектр включает 5 типов ареалов с преобладанием голарктического и древнесредиземноморского типов. Состояние сообщества оценивается как неудовлетворительное вследствие интенсивного выпаса скота и изменения водно-солевого режима.

Природоохранная значимость сообщества определяется тем, что один из доминирующих видов – *Neotrinia splendens* – находится на северо-западной границе своего ареала, а также присутствием *Ornithogalum fischerianum*, занесенного в Красную книгу Республики Казахстан (2014).

7. Камфоросмово-чернополынное сообщество (*Camphorosma monspeliaca* + *Artemisia rauciflora*) распространено на солонцах комплексной степи. Доминантом выступает нижневожско-прикаспийский вид *Artemisia rauciflora*, который в сочетании и комплексе с дерновинными злаками, полынью Лерха и камфоросмой формирует неоднородность растительного покрова. Общее проективное покрытие 30-40% (Рисунок 4б).

В составе сообщества насчитывается 13 видов растений, относящихся к 12 родам и 8 семействам. Ведущими по числу видов являются семейства Asteraceae, Poaceae и Chenopodiaceae. Выделено 7 жизненных форм, среди которых преобладают полукустарнич-

ки (30,8%), представленные *Artemisia pauciflora*, *Anabasis salsa*, *Camphorosma monspeliaca*, *Tanacetum achilleifolium*. Географический анализ показал присутствие 5 типов ареала: древнесредиземноморского (6 видов; 46,1%), голарктического, европейского, туранского (по 2 вида; 15,4%), североамериканского (1; 7,7%). Фитоценотическая структура характеризуется преобладанием степных видов (12; 92,3%). Состояние сообщества оценивается как неудовлетворительное вследствие нерегулируемого выпаса скота.

Сообщество представляет особый научный интерес в связи с участием в его структуре *Anabasis salsa*, находящегося на северной границе своего ареала в пределах изучаемого региона.

8. Мятликово-лерхопопынное сообщество (*Poa bulbosa* + *Artemisia lercheana*) встречаются на плакорных участках и у подножий склонов гор Сантас и Сасай. Общее проективное покрытие 50-60% (Рисунок 4с).

В сообществе отмечено 26 видов, относящихся к 25 родам и 12 семействам. Среди семейств доминируют *Asteraceae* и *Brassicaceae* (по 6 видов; 23,1%), тогда как *Poaceae* представлено лишь тремя видами (11,5%). Снижение роли злакового компонента обусловлено чрезмерным пастбищным прессингом (перевыпасом), в результате которого из структуры сообщества выпадают коренные степные злаки (*Festuca*, *Koeleria*, *Stipa* и др). Остальные семейства представлено одним, реже двумя видами. Основу флоры составляют многолетнее и однолетнее разнотравье (по 11 видов; 42,3%) и полукустарнички (4; 15,4%). Ведущее положение занимают степные виды (22; 85%). Выделяются 5 типов ареала: древнесредиземноморские (9 видов; 34,6%), голарктические (7; 26,9%), европейские (5; 19,2%), средиземноморские (3; 11,6%) и туранские (2; 7,7%). На участках с длительным перевыпасом наблюдается демутация растительности, сопровождающаяся формированием лерхопопынных пастбищных сообществ.

Несмотря на антропогенное воздействие, в сообществе сохраняется краснокнижный вид – *Ornithogalum fischerianum*.

9. Чернопопынно-кокпековое сообщество (*Artemisia pauciflora* + *Atriplex cana*) выявлено в районе староречья реки Солянки и канала Барбастау-Шалкар. Общее проективное покрытие 30-40% (Рисунок 4d).

В составе сообщества 18 видов растений, относящихся к 15 родам и 6 семействам. Доминирующее положение занимает семейство *Chenopodiaceae* (7 видов, 38,9%), тогда как семейства *Plumbaginaceae*, *Poaceae* и *Asteraceae* представлены тремя видами каждое (16,7%). Род *Limonium* включает три вида, *Artemisia* и *Atriplex* – по два, остальные роды являются моновидовыми. Биоморфологический анализ выявил присутствие полукустарничков (4; 22,2%), полукустарников (3; 16,7%), травянистых поликарпиков (6; 3,3%) и монокарпиков (5; 27,8%). Фитоценотическая структура характеризуется преобладанием степных 13 (72%) и пустынных (3; 17%) видов. Основу флоры составляют древнесредиземноморские виды (*Atriplex cana*, *Bassia hyssopifolia*, *Limonium suffruticosum*) и сахаро-гобийский вид (*Halocnemum strobilaceum*), что свидетельствует о древнем происхождении данного сообщества в пределах региона. Данное сообщество испытывает интенсивную антропогенную нагрузку, выражающуюся в чрезмерном пастбищном прессинге и вытаптывании растительного покрова скотом.

Научная значимость данного фитоценоза определяется тем, что оно является коренным типичным элементом степной зоны, а также служит местообитанием для *Anabasis salsa*, находящегося на северной границе своего ареала.

В. Редкие локальные сообщества, приуроченные к специфическим условиям местообитания.

С течением времени на обсыхающих участках дна озера Шалкар начали формироваться пионерные сообщества с участием гипергалофитных растений, развивающиеся в экстремальных условиях сильного засоления и нестабильного гидрологического режима. Эти сообщества характеризуются маловидовым составом и представляют научный интерес для изучения флорогенеза региона и биоразнообразия галофитной растительности.

10. Кермековокустарниковое сообщество (*Limonium suffruticosum*) приурочено к участкам обнажившегося дна озера Шалкар и прибрежным солончаковым участкам пионерного типа. Общее проективное покрытие 20-30% (Рисунок 5а).

Общее число видов в сообществе составляет 22, относящихся к 15 родам и 7 семействам. Анализ биоморф выявил разнообразие жизненных форм, среди которых господствуют травянистые растения. Значительную долю составляют однолетники (8 видов; 36,4%), наиболее представленными из которых являются *Polygonum arenarium*, *Salsola soda*, *Suaeda corniculata*.

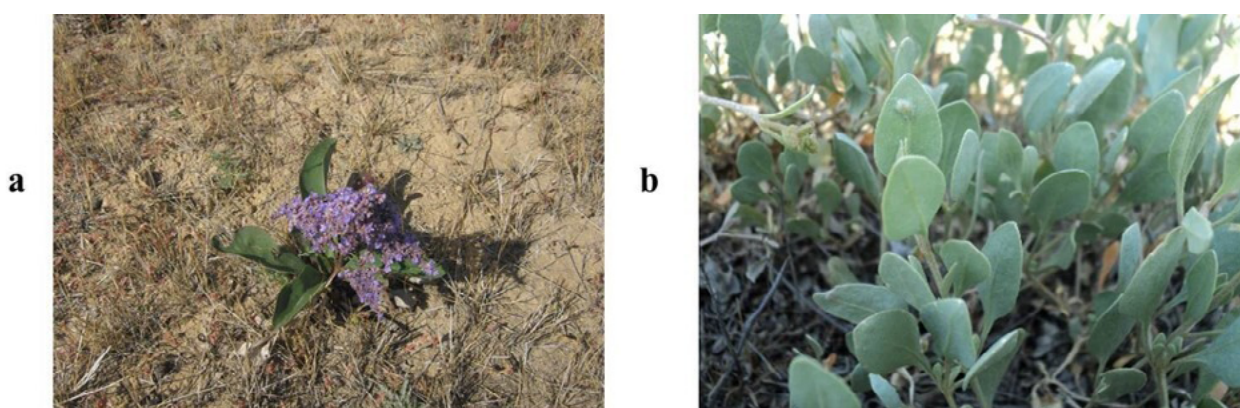


Рисунок 5. Сообщества на литорали озера Шалкар: а) Кермековое сообщество (*Limonium suffruticosum*). б) *Halimione verrucifera*. Веретирующее растение и верхушка побега.

Среди травянистых многолетников преобладают корневищные виды (*Aster amellus*, *Calamagrostis epigeios*, *Phragmites australis* и др.). Полудревесные ксерофиты (7; 31,8%) представлены *Artemisia monogyna*, *A. nitrosa*, *Atriplex cana*, *Halimione verrucifera*, *Halocnemum strobilaceum*, *Limonium suffruticosum*, *Tamarix laxa*. Такое соотношение жизненных форм отражает адаптацию растений к экстремальным условиям местообитания. Анализ географической структуры флоры показал присутствие 7 типов ареалов. В составе флоры отмечены древнесредиземноморские (*Atriplex cana*, *A. littoralis*, *Limonium otolenis*, *L. suffruticosum*, *Poa bulbosa*, *Tamarix laxa* и др.), центральноазиатские (*Artemisia nitrosa*, *Halimione verrucifera*, *Suaeda corniculata*) и сахаро-гобийские (*Halocnemum strobilaceum*) виды. Фитоценотическая структура представлена преимущественно степными видами (18; 82%) при незначительном участии луговых и сорных групп (по 2 вида; 9%).

11. Обионовое сообщество (*Halimione verrucifera*) распространено на солончаках и солончаковых участках литоральной зоны обсохшего дна озера Шалкар, в неглубоких ложбинах стока и микрозападинах. Общее проективное покрытие 20-35% (Рисунок 5б).

В сообществе участвует 10 видов растений, относящихся к 9 родам и 4 семействам. Маловидовой состав свидетельствует об экстремальных условиях местообитания и относительной молодости данной флоры. Значительную долю во флоре составляют однолетники

(4 вида; 40%). В описываемом сообществе выделено 6 типов географических ареалов: древнесредиземноморский (3 вида; 30%), голарктический (2; 20%) и европейский (2; 20%), а также средиземноморский, туранский и плюрирегиональный (по 1 виду; 10%). В фитоценотической структуре преобладают пустынные виды (5; 50%).

Кермеково-кустарниковое и обиновое сообщества рассматриваются как редкие галофитные сообщества, ограниченно распространённые в регионе. Они представляют значительный научный интерес, поскольку отражают процессы формирования пионерных экосистем на высыхающих участках дна солёных водоёмов.

Обсуждение

Проведенные исследования типчаково-ковыльных степей в окрестностях озера Шалкар указывают на неоднородность флоры различных местообитаний и разную степень антропогенного воздействия. Большинство сообществ находятся в угнетенном состоянии. Основными факторами деградации являются разработка мела, выпас скота, степные пожары, изменение гидрологического и гидрохимического режима озера Шалкар, водно-солевого режима почв, рекреационные нагрузки. На изучаемой территории выделено 11 редких сообществ, в которых число видов варьирует от 10 до 26 (Таблица 1).

Таблица 1

Представленность редких видов в растительных сообществах типчаково-ковыльных степей окрестностей озера Шалкар

Сообщество	Число видов в сообществе	Число эндемичных, локально-эндемичных и субэндемичных видов	Число реликтовых видов	Число видов, находящихся на крайней границе ареала	Число прочих редких видов	Число редких видов		
						всего	из них, включенных в КК РК	доля от общего числа, %
Редкие растительные сообщества, характерные только для Заволжско-Казахстанской провинции								
1	15	2	3		1	6	2	40
2	15	3	1		1	5	2	33,3
Редкие коренные зональные сообщества, испытывающие антропогенное воздействие								
3	19	4	2	-	2	8	1	42,1
4	23	-	-	1	1	2	1	8,7
5	26	-	-		2	2	2	7,7
6	19	-	-	1	1	2	1	10,5
7	13	-	-		1	1	-	7,7
8	26	-	-		1	1	1	3,8
9	18	-	-	1	-	1	-	5,6
Редкие локальные сообщества, приуроченные к специфическим условиям местообитания								
10	22	-	-	-	-	-	-	-
11	10	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: КК РК – Красная книга Республики Казахстан; номера сообществ 1-11 соответствует названию и описанию в тексте.

В данных сообществах отмечены редкие виды, которые имеют ключевое значение для поддержания биоразнообразия, устойчивости степной зоны и свидетельствуют о древнем генезисе сообществ и их рефугиальном характере. Наибольшая концентрация редких видов отмечена в лессингополынных, мятликово-пупавковых и житняково-ежовниковых сообществах.

Эдификаторы мятликово-пупавковых и житняково-ежовниковых сообществ включены в Красную книгу Республики Казахстан [14]. Озеро Шалкар охраняется как уникальный природный водный объект, а горы Сантас и Сасай – как геоморфологические объекты [29]. Но в современной природоохранной практике активно развивается экосистемный подход, согласно которому охране подлежат не только отдельные редкие виды, но и их естественные местообитания [30]. Присутствие на данной территории редких видов и уникальных растительных сообществ служит весомым обоснованием для создания комплексной особо охраняемой природной территории, призванной обеспечить сохранение не только геологических и гидрологических объектов, но и эндемичного растительного покрова региона. Окрестности озера Шалкар должны рассматриваться как один из ключевых участков сохранения биоразнообразия степных экосистем Западного Казахстана.

В связи с угрозой исчезновения редких растений и растительных сообществ необходима разработка на основании современного подхода и критериев МСОП обновление списка видов Красной и Зеленой книги [31]. Наиболее приоритетными для включения в Зеленую книгу ЗКО являются лессингополынные и подмаренниково-ковылковые сообщества.

Заключение

В целях предотвращения уничтожения редких растительных сообществ необходимо проведение следующего комплекса мероприятий:

- введение специальных режимов охраны на участках их распространения;
- организация регулярного мониторинга и контроля состояния сообществ;
- регламентация антропогенного воздействия на экосистемы, усиление контроля за рекреационной нагрузкой и выпасом скота.

Сохранение редких сообществ типчаково-ковыльных степей окрестностей озера Шалкар имеет ключевое значение для поддержания биоразнообразия и экологической устойчивости сухостепной зоны.

Вклад авторов

ТД – разработка концепции, планирование и проведение исследования, окончательная редакция; БА – проведение исследования, обработка данных, написание текста; ГК – планирование исследования, обработка данных; АС – проведение исследования, обработка данных; СБ – проведение исследования, обзор научной литературы и литературное оформление рукописи.

Финансирование

Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (BR 28712767 «Изучение экологических, социально-демографических, экономико-географических, палеобиогеографических аспектов

Приуралья и оценка его природно-ресурсного потенциала. Результаты данного исследования соответствуют цели устойчивого развития № 15 ООН «Сохранение экосистем суши».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

Список литературы

1. Лавренко Е. М., Карамышева З. В., Никулина Р. И. 1991. Степи Евразии. Л. 144 с.
2. Карамышева З. В., Рачковская Е. И. Ботаническая география степей Евразии. СПб.: Наука, 2004. 336 с.
3. Сафронова И. Н. О зональном разделении растительного покрова междуречья Волга–Урал. Ботанический журнал. 1975;6(60):823-831.
4. Иванов В. В. Степи Западного Казахстана в связи с динамикой их покрова. Уральск: ОФ «Евразийский союз ученых»; 2007. 288 с.
5. Петренко А. З., Джубанов А. А., Фартушина М. М. и др. Природно-ресурсный потенциал и проектируемые объекты заповедного фонда. Уральск: РИО ЗКГУ; 2001; 175 с.
6. Дарбаева Т. Е. Растительность г. Сантас и Сасай // Экосистемы Западно-Казахстанской области. Уральск, 1995. С.12-13.
7. Дарбаева Т. Е. Конспект флоры меловых возвышенностей Северо-Западного Казахстана. Уральск, 2002. 107 с.
8. Дарбаева Т. Е., Альжанова Б. С., Бохорова С. Н. и др. Флуктуация галофитных сообществ на обнаженной части озера Челкар. Степи Северной Евразии: материалы X Международного симпозиума. Оренбург: ОГУ; 2024. С. 334-339.
9. Корчагин А. А. Видовой (флористический) состав растительных сообществ и методы его изучения. В: Лавренко Е., редактор. Полевая геоботаника. 3(5). М.-Л.: Наука; 1964. С. 39-62.
10. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб.: Мир и семья; 1995; 992 с.
11. Plants of the World Online (POWO). [Интернет]. Royal Botanic Gardens, Kew 2026 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: <https://powo.science.kew.org/>
12. Тахтаджян А. Л. Система Магнолиофитов. Л.: Изд-во «Наука», 1987. 439 с.
13. Красная книга Казахстана. Т.2, Ч. 2. Растения (2-е изд., исправленное и дополненное). Астана: LTD «Art-Print XXI»; 2014. 452 с.
14. Перечень редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений. Постановление Правительства Республики Казахстан от 31.10.2006 №1034 [Интернет]. 2006 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P060001034>
15. «Об утверждении перечня эндемичных и реликтовых растений» Приказ Министра экологии и природных ресурсов Республики Казахстан от 7 марта 2023 года №78. [Интернет]. 2023 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2300032050>

16. Иванов В. В. Ботанические объекты Северного Прикаспия, нуждающиеся в охране. Вопросы охраны ботанических объектов. Л.: Изд-во «Наука»; 1971. С. 175-178.
17. Петренко А. З., Фартушина М. М. Зеленая книга Западно-Казахстанской области. Уральск: Изд-во РИО ЗКГУ; 2001. 194 с.
18. Серебряков И. Г. Жизненные формы высших растений и их изучение. В: Лавренко Е., редактор. Полевая геоботаника. 3(5). М.-Л.: Наука; 1964. С.146-205.
19. Тахтаджян А. Л. Происхождение и расселение цветковых растений. Л. Наука, 1970; 146 с.
20. Толмачев А. И. Введение в географию растений. Ленинград: Издательство Ленинградского университета, 1974; 244 с.
21. Быков Б. А. Введение в фитоценологию. Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1970. 226 с.
22. Михайлова Н. Н., Великанов А. Е. К вопросу о природе Шалкарского землетрясения, произошедшего в Западном Казахстане 26 апреля 2008 года. Вестник НЯЦ РК. 2009; 3(39):127-134.
23. Лавренко Е. М. Об охране ботанических объектов. Вопросы охраны ботанических объектов. Л.: Изд-во «Наука»; 1971. С. 6-13.
24. Стойко С. М. Экологические основы охраны редких, уникальных и типичных фитоценозов. Ботанический журнал. 1983; 11(68):1574-1583.
25. Рачковская Е. И., Огарь Н. П., Марынич О. В. Редкие растительные сообщества степей Казахстана и их охрана. Степной бюллетень. 1999; 3-4:41-46.
26. Ямалов С. М., Лебедева М. В., Голованов Я. М. и др. Редкие и нуждающиеся в охране виды растений каменистых степей южного и среднего Урала. Самарский научный вестник. 2019; Т.8; 4(29):107–115. doi.org/ 10.24411/2309-4370-2019-14119.
27. Димеева Л.А., Усен К., Калиев Б.Ш. и др. Редкие растительные сообщества северного макросклона Жетысуского Алатау. Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2020; 19(1):108-13. Доступно на: <https://journal.asu.ru/bpssm/article/view/pbssm.2020022>
28. Иванов В. В. Сложноцветные Северного Прикаспия. Материалы по флоре и растительности Северного Прикаспия. Л., 1966б; 2(3):1-142.
29. Перечень объектов государственного природно-заповедного фонда республиканского значения. Постановление Правительства Республики Казахстан от 28 сентября 2006 года №932 [Интернет]. 2006 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: https://adilet.zan.kz/rus/docs/P060000932_#z0
30. «О растительном мире». Закон Республики Казахстан от 2 января 2023 года №183-VII ЗРК [Интернет]. 2023 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/Z2300000183>
31. Концепция сохранения и устойчивого использования биоразнообразия в Республике Казахстан на 2026-2035 год. Постановление Правительства Республики Казахстан от 31 декабря 2025 года №1206. [Интернет]. 2026 [цитировано 3 марта 2026]. Доступно: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P2500001206>

Шалқар көлі маңының бетегелі-селеулі далаларының сирек кездесетін қауымдастықтары

Т.Е. Дарбаева¹, Б.С. Альжанова², Г.С. Кайсағалиева³,
А.Н. Сарсенова⁴, С.Н. Бохорова^{*5}

^{1,2,3,4,5} Махамбет Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті,
Орал, Қазақстан

Аңдатпа. Мақалада Батыс Қазақстан облысы аумағындағы Шалқар көлінің маңында кездесетін бетегелі-ақселеулі далалардың сирек қауымдастықтарын зерттеу нәтижелері ұсынылған. Зерттелген аумақта сирек кездесетін 11 өсімдік қауымдастықтары 3 санатқа бөлінді: 1) тек Заволжье-Қазақстан провинциясына ғана тән сирек кездесетін өсімдіктер қауымдастықтары, мұнда доминант болып сирек және реликті түрлер *Anthemis troztkiana* және *Anabasis cretacea* саналады; 2) антропогендік әсерге ең көп ұшыраған сирек кездесетін байырғы аймақтық қауымдастықтар; 3) мекен ету ортасының ерекше жағдайларына байланысты қалыптасқан сирек кездесетін жергілікті қауымдастықтар. Аталған сирек кездесетін қауымдастықтар биоәртүрлілік пен дала аймағының тұрақтылығын сақтау үшін ерекше маңызға ие және қауымдастықтардың ежелгі генезисі мен рефугиалдық сипатын көрсетеді.

Түйін сөздер: Батыс Қазақстан, Шалқар көлі, бетегелі-ақселеулі дала; сирек кездесетін өсімдік қауымдастықтары, реликті және эндемикалық түрлер, байырғы аймақтық қауымдастықтар

Rare communities of fescue-feather grass steppes in the vicinity of Lake Shalkar

T.E. Darbayeva¹, B.S. Alzhanova², G.S. Kaysagalieva³,
A.N. Sarsenova⁴, S.N. Bokhorova^{*5}

^{1,2,3,4,5} Makhambet Utemisov West Kazakhstan University, Uralsk, Kazakhstan

Abstract. The article presents the results of research on rare fescue-feather grass steppe communities in the vicinity of Lake Shalkar within the West Kazakhstan Region. In the studied area, we identified 11 rare communities and subdivided them into 3 categories: 1) rare plant communities characteristic only of the Trans-Volga–Kazakhstan province, where the dominants are the rare and relict species *Anthemis troztkiana* and *Anabasis cretacea*; 2) rare pristine zonal communities experiencing the greatest anthropogenic impact; 3) rare local communities confined to specific habitat conditions. The identified rare plant communities are of key importance for maintaining biodiversity and the sustainability of the steppe zone, indicating the ancient genesis of the communities and their refugial nature.

Keywords: Western Kazakhstan, Lake Chelkar, fescue-feather grass steppes; rare plant communities, relict and endemic species, aboriginal zonal communities

References

1. Lavrenko EM, Karamysheva ZV, Nikulina RI. 1991. Stepi Evrazii [Steppes of Eurasia]. L. 144 p. [in Russian]
2. Karamysheva ZV, Rachkovskaja EI. Botanicheskaja geografija stepej Evrazii [The botanical geography of the Eurasian steppes]. SPb.: Nauka, 2004. 336 p. [in Russian]
3. Safronova IN. O zonal'nom razdelenii rastitel'nogo pokrova mezhdurech'ja Volga-Ural [On the zonal division of the vegetation cover of the Volga-Ural interfluve]. Botanicheskij zhurnal. 1975;6(60):823-831. [in Russian]
4. Ivanov VV. Stepi Zapadnogo Kazakhstana v svyazi s dinamikoj ih pokrova [Steppes of Western Kazakhstan in connection with the dynamics of their cover]. Ural'sk: OF «Evrazijskij sojuz uchenyh»; 2007. 288 p. [in Russian]
5. Petrenko AZ, Dzhubanov AA, Fartushina MM. i dr. Prirodno-resursnyj potencial i proektiruemye ob#ekty zapovednogo fonda [Natural and resource potential and designed projects of reserved fund of the West Kazakhstan region]. Ural'sk: RIO ZKGU; 2001; 175 p. [in Russian]
6. Darbaeva TE. Rastitel'nost' g. Santas i Sasaj [Vegetation of Santas and Sasai] // Jekosistemy Zapadno-Kazakhstanskoj oblasti. Ural'sk, 1995. P.12-13. [in Russian]
7. Darbaeva TE. Konspekt flory melovyh vozvysennostej Severo-Zapadnogo Kazakhstana [A summary of the flora of the Cretaceous uplands of North-Western Kazakhstan]. Ural'sk, 2002. 107 p. [in Russian]
8. Darbaeva TE, Al'zhanova BS, Bohorova SN. i dr. Fluktuacija galofitnyh soobshhestv na obnazhennoj chasti ozera Chelkar [Fluctuation of halophyte communities in the exposed part of Lake Chelkar]. Stepi Severnoj Evrazii: materialy H Mezhdunarodnogo simpoziuma. Orenburg: OGU; 2024. P. 334-339. [in Russian]
9. Korchagin AA. Vidovoj (floristicheskij) sostav rastitel'nyh soobshhestv i metody ego izuchenija. V: Lavrenko E., redaktor. Polevaja geobotanika [Field geobotany]. 3(5). M.-L.: Nauka; 1964. P. 39-62. [in Russian]
10. Cherepanov SK. Sosudistye rastenija Rossii i sopredel'nyh gosudarstv (v predelah byvshego SSSR) [Vascular plants of Russia and the adjacent States (within the former Soviet Union)]. SPb.: Mir i sem'ja; 1995; 992 p. [in Russian]
11. Plants of the World Online (POWO) [Internet]. Royal Botanic Gardens, Kew 2026 [cited 2026 March 03]. Available from: <https://powo.science.kew.org/>
12. Tahtadzhjan AL. Sistema Magnoliofitov [The Magnoliophyte system]. L.: Izd-vo «Nauka», 1987; 439 p. [in Russian]
13. Krasnaja kniga Kazakhstana [The Red Book of Kazakhstan]. T.2, Ch. 2. Rastenija (2-e izd., ispravlennoe i dopolnennoe). Astana: LTD «Art-Print XXI»; 2014. 452 p. [in Russian]
14. Perechen' redkih i nahodjashihhsja pod ugrozoi ischeznovenija vidov rastenij [List of rare and endangered plant species]. Postanovlenie Pravitel'stva Respubliki Kazahstan ot 31.10.2006 №1034 [Internet]. 2006 [cited 2026 March 03]. Available from: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P060001034> [in Russian]
15. «Ob utverzhdenii perechnja jendemichnyh i reliktovyh rastenij» [On approval of the list of endemic and relict plants]. Prikaz Ministra jekologii i prirodnyh resursov Respubliki Kazahstan ot 7 marta 2023 goda № 78. [Internet]. 2023 [cited 2026 March 03]. Available from: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V2300032050> [in Russian]

16. Ivanov VV. Botanicheskie ob#ekty Severnogo Prikaspija, nuzhdajushhiesja v ohrane. Voprosy ohrany botanicheskikh ob#ektov [Botanical sites of the Northern Caspian region in need of protection. Issues of protection of botanical objects]. L.: Izd-vo «Nauka»; 1971. P. 175-178. [in Russian]
17. Petrenko AZ, Fartushina MM. Zelenaja kniga Zapadno-Kazahstanskoj oblasti [Green Paper of West Kazakhstan region]. Ural'sk: Izd-vo RIO ZKGU; 2001. 194 p. [in Russian]
18. Serebrjakov IG. Zhiznennye formy vysshih rastenij i ih izuchenie [Life forms of higher plants and their study]. V: Lavrenko E., redaktor. Polevaja geobotanika. 3(5). M.-L.: Nauka; 1964. P.146-205.
19. Tahtadzhjan AL. Proishozhdenie i rasselenie cvetkovyh rastenij [The origin and settlement of flowering plants]. L. Nauka, 1970; 146 p. [in Russian]
20. Tolmachev AI. Vvedenie v geografiju rastenij [Introduction to plant geography]. Leningrad: Izdatel'stvo Leningradskogo universiteta, 1974; 244 p. [in Russian]
21. Bykov BA. Vvedenie v fitocenologiju [Introduction to phytocenology]. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1970. 226 p. [in Russian]
22. Mihajlova NN., Velikanov AE. K voprosu o prirode Shalkarskogo zemletrjasenija, proizoshedshego v Zapadnom Kazahstane 26 aprelja 2008 goda [On the nature of the Shalkar earthquake that occurred in Western Kazakhstan on April 26, 2008]. Vestnik NJaC RK. 2009; 3(39):127-134. [in Russian]
23. Lavrenko EM. Ob ohrane botanicheskikh ob#ektov. Voprosy ohrany botanicheskikh ob#ektov [About the protection of botanical sites. Issues of protection of botanical objects]. L.: Izd-vo «Nauka»; 1971. P. 6-13. [in Russian]
24. Stojko SM. Jekologicheskie osnovy ohrany redkih, unikal'nyh i tipichnyh fitocenozov [Ecological foundations of the protection of rare, unique and typical phytocenoses]. Botanicheskij zhurnal. 1983; 11(68):1574-1583. [in Russian]
25. Rachkovskaja EI, Ogar' NP, Marynich OV. Redkie rastitel'nye soobshhestva stepej Kazahstana i ih ohrana [Rare plant communities of the steppes of Kazakhstan and their protection]. Stepoj bjulleten'. 1999; 3-4:41-46. [in Russian]
26. Jamalov SM, Lebedeva MV, Golovanov JaM. i dr. Redkie i nuzhdajushhiesja v ohrane vidy rastenij kamenistyh stepej juzhnogo i srednego Urala [Rare and protection needed species of petrophytic steppes of the Southern and Middle Urals]. Samarskij nauchnyj vestnik. 2019; T.8; 4(29):107-115. doi.org/ 10.24411/2309-4370-2019-14119. [in Russian]
27. Dimeeva LA, Usen K, Kaliev BSh. i dr. Redkie rastitel'nye soobshhestva severnogo makrosklona Zhetyysuskogo Alatau [Rare plant communities of the northern range of Zhetyysu Alatau Mountains]. Problemy botaniki Juzhnoj Sibiri i Mongolii, 2020. 19(1):108-13 [in Russian]
28. Ivanov VV. Slozhnocvetnye Severnogo Prikaspija [Compositae of the Northern Caspian]. Materialy po flore i rastitel'nosti Severnogo Prikaspija [Materials on the flora and vegetation of the Northern Caspian]. L., 1966; 2(3):1-142. [in Russian]
29. Perechen' ob#ektov gosudarstvennogo prirodno-zapovednogo fonda respublikanskogo znachenija [List of objects of the state nature reserve Fund of republican significance]. Postanovlenie Pravitel'stva Respubliki Kazahstan ot 28 sentjabrja 2006 goda №932 [Internet]. 2006 [cited 2026 March 03]. Available from: https://adilet.zan.kz/rus/docs/P060000932_#z0 [in Russian]
30. «O rastitel'nom mire» [About the plant world]. Zakon Respubliki Kazahstan ot 2 janvarja 2023 goda №183-VII ZRK [Internet]. 2023 [cited 2026 March 03]. Available from: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/Z2300000183> [in Russian]
31. Konceptcija sohraneniya i ustojchivogo ispol'zovaniya bioraznoobrazija v Respublike Kazahstan na 2026-2035 god [The concept of conservation and sustainable use of biodiversity in

the Republic of Kazakhstan for 2026-2035]. Postanovlenie Pravitel'stva Respubliki Kazahstan ot 31 dekabrya 2025 goda № 1206 [Internet]. 2026 [cited 2026 March 03]. Available from: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P2500001206> [in Russian]

Сведения об авторах:

Дарбаева Талшен Есенмановна – доктор биологических наук, профессор естественно-географического факультета, пр. Н.Назарбаева, 162, 090000, Уральск, Казахстан.

Альжанова Багдагул Сактагановна – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент естественно-географического факультета, пр. Н.Назарбаева, 162, 090000, Уральск, Казахстан.

Кайсағалиева Гульжахан Смаиловна – кандидат биологических наук, ассоциированный профессор естественно-географического факультета, пр. Н.Назарбаева, 162, 090000, Уральск, Казахстан.

Сарсенова Асемгуль Нурсаиновна – PhD, старший преподаватель естественно-географического факультета, пр. Н.Назарбаева, 162, 090000, Уральск, Казахстан.

Бохорова Светлана Николаевна – автор-корреспондент, магистр экологии, старший преподаватель естественно-географического факультета, пр. Н.Назарбаева, 162, 090000, Уральск, Казахстан.

Авторлар туралы мәліметтер:

Дарбаева Талшен Есенмановна – биология ғылымдарының докторы, жаратылыстану-география факультетінің профессоры, Н. Назарбаев даңғылы, 162, 090000, Орал, Қазақстан.

Альжанова Багдагул Сактагановна – ауылшаруашылық ғылымдарының кандидаты, жаратылыстану-география факультетінің доценті, Н. Назарбаев даңғылы, 162, 090000, Орал, Қазақстан.

Кайсағалиева Гульжахан Смаиловна – биология ғылымдарының кандидаты, жаратылыстану-география факультетінің қауымдастырылған профессоры, Н. Назарбаев даңғылы, 162, 090000, Орал, Қазақстан.

Сарсенова Асемгуль Нурсаиновна – PhD, жаратылыстану-география факультетінің аға оқытушысы, Н. Назарбаев даңғылы, 162, 090000, Орал, Қазақстан.

Бохорова Светлана Николаевна – хат-хабар авторы, экология магистрі, жаратылыстану-география факультетінің аға оқытушысы, Н. Назарбаев даңғылы, 162, 090000, Орал, Қазақстан.

Authors' information:

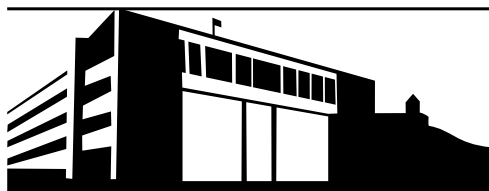
Darbayaeva Talshen – Doctor of Biological Sciences, Professor, Faculty of Natural Geography, N. Nazarbayev Avenue 162, 090000, Uralsk, Kazakhstan.

Alzhanova Bagdagul – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor, Faculty of Natural Geography, N. Nazarbayev Avenue 162, 090000, Uralsk, Kazakhstan.

Kaysagalieva Gulzhakhan – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Faculty of Natural Geography, N. Nazarbayev Avenue 162, 090000, Uralsk, Kazakhstan.

Sarsenova Assemgul – PhD, Senior lecturer, Faculty of Natural Geography, N. Nazarbayev Avenue 162, 090000, Uralsk, Kazakhstan.

Bokhorova Svetlana – Corresponding author, Master of Ecology, Senior lecturer, Faculty of Natural Geography, N. Nazarbayev Avenue 162, 090000, Uralsk, Kazakhstan.



IRSTI 34.15.27; 34.15.05
Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-75-90>

Efficient expression and purification of recombinant MUTYH protein in *Escherichia coli*

U.B. Sarsenbayeva^{1*}, A.A. Kunanbayeva², A.A. Almasbekova³,
K.O. Sharipov⁴, M.K. Saparbayev⁵, S.M. Taipakova⁶

^{1,2,3,5,6} Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

^{1,3,4,3} M. Aitkhozhin institute of molecular biology and biochemistry, Almaty, Kazakhstan

^{1,3,4} S. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan

^{5,6} Scientific Research Institute of Biology and Biotechnology Problems,
Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

⁵ Group «Mechanisms of DNA Repair and Carcinogenesis», CNRS UMR⁹⁰¹⁹,
Université Paris-Saclay, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, Cedex, France

E-mail: ^{*1} ulansarsenbayeva@gmail.com, ² kunanbayeva_a@mail.ru,

³ almasbekovaadina94@gmail.com, ⁴ sharipov.k@kaznmu.kz,

⁵ murat.saparbaev@gustaveroussy.fr, ⁶ sabira.taipakova@gmail.com

Abstract. MUTYH is a DNA glycosylase involved in the excisional base repair (BER) process responsible for the recognition and removal of adenine improperly bonded to 8-oxoguanine. Pathogenic variants or impaired MUTYH function are associated with MUTYH-associated polyposis and an increased risk of colorectal cancer. Recombinant MUTYH production is necessary for biochemical and structural studies. In this study, we developed and optimized a protocol for the expression and purification of recombinant human MUTYH protein fused with the 6×His N-terminal label. Wild-type constructs were cloned into the pET-28c expression vector and expressed in *Escherichia coli* Rosetta (DE3), ArcticExpress(DE3), and SHuffle® T7 Express strains. Low-temperature induction and optimized IPTG concentrations improved protein solubility. Recombinant MUTYH was purified using Ni²⁺-affinity chromatography followed by affinity chromatography with heparin. SDS-PAGE and Western blot analyses confirmed a high level of expression and effective isolation of the recombinant protein, with a significant portion isolated in a soluble form. The optimized workflow provides a reproducible method for obtaining purified MUTYH, suitable for subsequent biochemical and structural studies. In the future, we plan to evaluate its enzymatic activity.

Keywords: DNA repair, MUTYH, Base excision repair, oxidative DNA damage, recombinant protein expression, affinity chromatography, colorectal cancer.

Introduction

Numerous endogenous and exogenous DNA-damaging agents, such as reactive oxygen species (ROS) produced during regular cellular metabolism, ultraviolet and ionizing radiation, chemical mutagens, and viral infections, are constantly present in the genome [1-4]. Numerous DNA lesions, including oxidative base modifications, point mutations, depurination, and single- and double-strand breaks, can be caused by these factors and endanger cellular homeostasis and genomic integrity [5]. Cells use highly conserved DNA repair pathways, such as base excision repair (BER), nucleotide excision repair, homologous recombination, and non-homologous end joining (NHEJ), to combat these insults [6].

Among these mechanisms, the BER pathway plays a central role in repairing oxidative DNA damage. The DNA glycosylase family is a crucial class of BER enzymes that starts repair by identifying and eliminating damaged or mispaired bases [7, 8]. The MUTYH gene encodes MUTYH (MutY Homolog), one of this family's essential glycosylases [9]. MUTYH specifically recognizes adenines misincorporated opposite 8-oxoguanine (8-oxoG), a highly mutagenic lesion arising from oxidative stress. MUTYH plays a crucial role in maintaining genomic stability by preventing G:C→T:A transversion mutations by eliminating the mispaired adenine [10, 11].

Structurally, MUTYH contains a conserved helix-hairpin-helix (HhH)-GTP motif, a hallmark of many DNA glycosylases, which mediates damaged base recognition and catalytic excision [5]. This domain forms a defined binding pocket that accommodates the aberrant base, ensuring precise cleavage while minimizing collateral DNA damage [12]. Furthermore, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), replication protein A (RPA), and apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1) are among the other parts of the BER machinery and the DNA replication complex with which the C-terminal region of MUTYH mediates interactions. These interactions enable coordination of repair processes, particularly at replication forks [7].

MUTYH also functions in close cooperation with other DNA glycosylases, such as OGG1, which removes 8-oxoG from G: C base pairs, and members of the NEIL (NEIL1-3) family, which recognize distinct classes of oxidized bases [13-16]. These enzymes work together to create an integrated BER network that guarantees precise lesion identification, effective transfer of repair intermediates, and prompt DNA repair completion [6, 7].

Particularly significant is the functional interaction between MUTYH and APE1. An abasic (AP) site is created after adenine excision by MUTYH and needs to be processed right away to prevent strand breaks or damage related to replication. APE1 efficiently cleaves these AP sites, allowing downstream repair steps to proceed and ensuring restoration of DNA integrity. This coordinated action enhances BER efficiency, reduces mutational burden, and preserves genome stability [15-19].

MUTYH-associated polyposis (MAP), an autosomal recessive cancer predisposition syndrome marked by multiple colorectal adenomas and a markedly increased risk of colorectal cancer, is directly associated with loss of MUTYH function or the presence of pathogenic variants. Aside from MAP, sporadic colorectal cancer, gastric cancer, and other cancers linked to oxidative stress and impaired BER have also been linked to altered MUTYH expression or activity [7, 18, 19].

MUTYH is highly relevant to biomedicine because of its crucial function in genome maintenance. The accumulation of mutations is caused by reduced glycosylase activity in cancer-associated variants of MUTYH, whereas functional MUTYH inhibits mutagenesis and tumor development. Therefore, to clarify its molecular mechanisms and develop treatment approaches, recombinant production and thorough biochemical characterization of MUTYH and its disease-associated variants are crucial [1, 3, 6].

Despite its significance, active recombinant MUTYH production is still technically difficult. Like many eukaryotic DNA repair enzymes, *Escherichia coli*-expressed MUTYH frequently exhibits poor solubility, forms inclusion bodies, or degrades proteolytically. These restrictions can result from cytotoxic effects linked to high-level expression, incorrect folding, or the need for particular redox conditions [3, 20]. The selection of appropriate host strains (such as Rosetta (DE3), Arctic Express (DE3), and SHuffle® T7 Express), modification of induction parameters (temperature, IPTG concentration, induction time), codon optimization, or the application of solubility-enhancing techniques are therefore essential steps in the optimization of recombinant expression [3].

To isolate a functionally active protein suitable for biochemical and structural analyses, the current study aimed to develop and refine an effective protocol for the recombinant expression and purification of human MUTYH using affinity chromatography.

Materials and research methods

Molecular cloning and plasmid construction

Gene-specific primers intended to introduce NdeI and BamHI restriction sites for directional cloning into the pET28c(+) expression vector were used to amplify the full-length human MUTYH coding sequence by PCR.

The primers that were utilized were Rv-MUTYH (32-mer, reverse): 5'-TATAGG-GATCCTCGAAACTCGATCTCGAAGAG-3' and Fw-MUTYH (30-mer forward): 5'-TATACATATGAT-GACACCGCTCGTCTCCCG-3'.

PCR was carried out in a total volume of 50 µL, containing 10× high-fidelity reaction buffer, between 5 and 50 ng of plasmid DNA, 125 ng of each primer, dNTP mix, and PfuUltra HF DNA polymerase. Thermal cycling is a way to change the DNA from a regular structure to a different structure, and then back again. First, the DNA is heated to 95°C for 30 seconds, then it is cooled down to 68°C for 1 minute. This is then repeated 25 to 30 times.

The product from the PCR was made pure with a PCR purification kit, cut with NdeI and BamHI, and joined to the cut pET28c(+) vector using T4 DNA ligase. The ligation mixture was then added to some bacteria called *Escherichia coli* DH5α cells. The transformed cells were then collected in a special liquid called SOC medium at 37 °C for 1 hour. After this, they were put onto a plate of LB agar containing 50 µg/mL kanamycin.

Individual colonies were selected and plasmid DNA was isolated using the GeneJET Plasmid Midi Prep Kit (New England Biolabs). We can be sure that the correct version of the MUTYH gene was put in and that no mistakes were made by checking it using restriction digestion and Sanger sequencing.

The transformed WT MUTYH plasmids, which had been checked using a process called 'sequence verification', were then introduced into *E. coli* Rosetta (DE3), Shuffle T7 Express and Arctic Express (DE3) strains. This was done to make a recombinant protein.

Preliminary protein expression and optimization

We tried out several prokaryotic expression systems to make a working version of the human MUTYH gene. The pET28c-MUTYH construct was introduced into *E. coli* strains Rosetta(DE3), Arctic Express(DE3), and Shuffle® T7 Express. In Rosetta (DE3) cells, we made the proteins using 0.5 mM IPTG, and then took samples at 2, 4, 6, and 16 hours after we had added the IPTG. The protein fractions were separated into soluble and insoluble parts, and their levels were assessed using a method called SDS-PAGE.

Arctic Express (DE3) cells, which co-produce cold-adapted chaperones, were put through their paces together to make proteins more soluble. We made the cells produce a certain substance by adding a chemical called IPTG, and then we put the cultures in a fridge at 15°C. We collected samples at the same times. Another way of doing this was to add 0.2% glucose and 3% ethanol to the liquid mixture. This is because these substances can stop the body from breaking down muscle and can increase protein production.

For the Shuffle® T7 Express, we tested IPTG concentrations of 0.1, 0.2, 0.3, and 0.5 mM. We also tested post-induction incubation times of 2, 4, 6, and 16 hours at 15°C. They then collected and analyzed the soluble and insoluble parts of the sample. This was done by SDS-PAGE to find the best conditions for identifying the soluble WT MUTYH protein. These experiments showed the best ways to grow and purify large quantities of protein.

Purification of recombinant WT proteins

We produced the soluble MUTYH in E. coli Shuffle® T7 Express cells, then harvested it after adding 0.2 mM IPTG at 15°C for four hours. Bacterial cells were harvested using a centrifuge and then put back into a liquid by adding a chemical called 'lysis buffer' which contains a number of things including 30 mM of Tris-HCl (pH 7.5), 1 M NaCl, 30 mM of β -mercaptoethanol, 5% (volume for volume) glycerol and a complete EDTA-free protease inhibitor (Roche). The cells were disrupted using a French press at 18,000 psi, and the lysates were clarified by spinning at 30,000×g for 1 h at 4 °C, to yield clear liquids containing soluble MUTYH.

For affinity purification, the mixture was adjusted to a final mix of 20 mM HEPES (pH 8.0), 500 mM NaCl, 30 mM imidazole, and 5% glycerol, and then loaded onto a HisTrap Chelating Ni^{2+} -Affinity column (GE Healthcare). The protein stuck tightly to the resin and was separated into clear lines when a specific imidazole solution was added (between 30 and 500 mM). Imidazole was removed straight away after elution to keep the protein stable.

To make the product even purer, the eluate was then passed through a heparin affinity chromatographic column. Before loading, the protein sample was made weaker by mixing it with low-salt buffer (30 mM HEPES, pH 7.6; 5% glycerol; 1 mM DTT; 1 mM EDTA) to reduce the NaCl concentration to approximately 100 mM. Proteins were extracted using a gradually increasing amount of sodium chloride in the same buffer system.

We then looked at the samples using something called SDS-PAGE. The ones that contained the most purified MUTYH were put together. The purified protein was stored at -80°C in 50% glycerol and remained stable under these conditions for later biochemical and functional analyses.

Protein analysis using SDS-PAGE

Protein samples were mixed with a 5-fold SDS-PAGE loading buffer (125 mM Tris-HCl, pH 6.8; 10% β -mercaptoethanol; 4% SDS; 0.02% bromophenol blue; 20% glycerol) and denatured at 80°C for 10 minutes. The samples were loaded onto a 10% polyacrylamide gel for electrophoresis. Electrophoretic analysis was performed in two stages: first, the proteins were concentrated in a gel and run at 100 V for 20 minutes, and then separated in a soluble gel at 200 V for 40-45 minutes. Tris-Glycine-SDS buffer (25 mM Tris, 192 mM glycine, 0.1% SDS, pH ~8.3) was used as the working buffer. After electrophoresis, the gels were stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 (0.1% Coomassie R-250, 40% ethanol, 10% acetic acid) for 30 minutes. Destaining was performed either with running water or with a solution containing 40% ethanol and 10% acetic acid, repeated 4-5 times for 20 minutes each, until the protein bands became clearly visible.

Results

Construction of a Recombinant DNA Expression Vector for MUTYH.

In this study, we created a special DNA design that allowed us to express the human MUTYH gene in bacteria. We cloned a synthetic cDNA sequence corresponding to the full-length MUTYH gene into the multiple cloning site of the pET-28c(+) expression vector (see Figure 1). This vector was chosen because it has a strong T7 RNA polymerase-dependent promoter and an N-terminal 6×His tag. These things allow the vector to be expressed at a high level in *Escherichia coli*. They also make it easy to purify the recombinant protein using an affinity chromatography process.

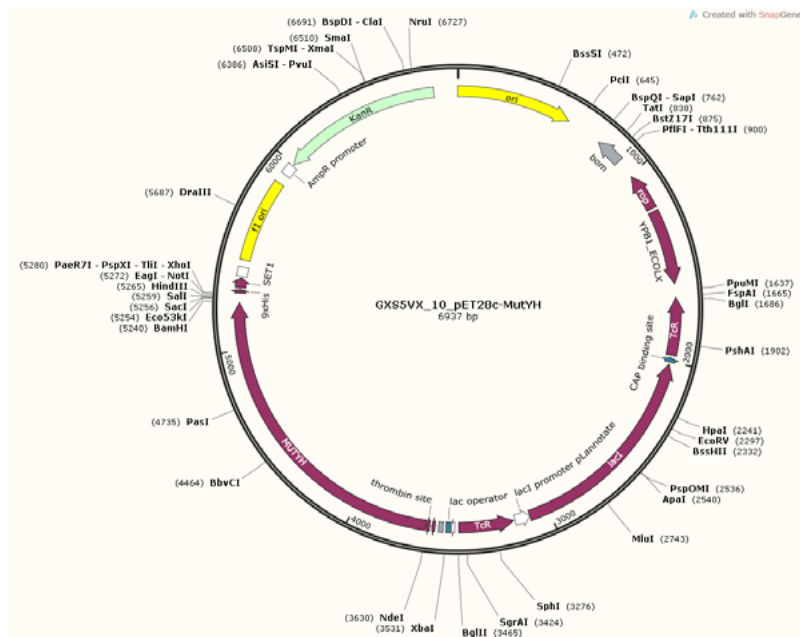


Figure 1. Map of the recombinant pET-28c/MUTYH expression vector.

First, the MUTYH coding fragment and the pET-28c(+) vector were cut into smaller pieces with the restriction endonucleases NdeI and BamHI. Next, the fragments were joined together using T4 DNA ligase. The resulting construct contained the MUTYH insert in the correct position, downstream of the T7 promoter and fused to an N-terminal His tag.

All the plasmids that were made were designed and looked at using software called SnapGene. During vector design, compatibility, reading frame integrity, and restriction site positioning were carefully checked.

The resulting pET-28c/MUTYH plasmid was then added to *E. coli* DH5 α cells, which had been treated with heat, to make them ready for the next step in the process. The transformants were selected on LB agar plates with added kanamycin (50 μ g/mL). The transformation was a success, as shown by the colonies growing well in the right conditions.

The DNA was taken from certain groups of bacteria and made into a copy (a «copy», or «template», of the original DNA) using something called a «PCR reaction» (a special process that makes lots more copies of the DNA). We used agarose gel electrophoresis of the PCR products to reveal the DNA fragment (Figure 2). This revealed that the expected DNA size for the MUTYH cDNA was 1,621 bp.

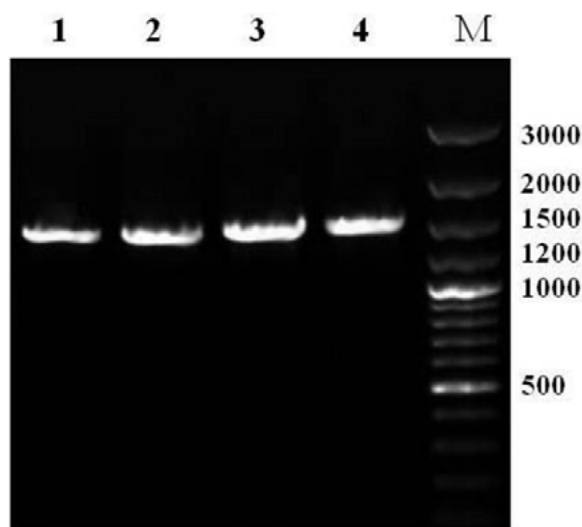


Figure 2. Agarose gel electrophoresis (1%) of PCR products confirming the presence of the MUTYH insert in recombinant pET-28c/MUTYH plasmids. M – 1 kb DNA ladder; lanes 1-4, PCR products (~1621 bp) amplified from selected clones.

Additional verification was performed by restriction digestion with NdeI and BamHI, yielding two fragments of approximately 5,367 bp (vector backbone) and 1,621 bp (MUTYH insert). This further confirmed the integrity of the recombinant construct.

Preliminary expression analysis.

To achieve functional expression of the human MUTYH protein, several prokaryotic expression systems were comparatively evaluated. At the initial stage, the recombinant pET-28c/MUTYH construct was transformed into *Escherichia coli* Rosetta(DE3) (Novagen) and Arctic-Express(DE3) (Agilent Technologies) strains, and protein expression was induced with IPTG (Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside, Thermo Fisher Scientific).

In *E. coli* Rosetta(DE3), protein expression was induced with 0.5 mM IPTG, and cells were incubated for 2, 4, 6, and 16 hours. SDS-PAGE analysis demonstrated that, under all tested conditions, the recombinant MUTYH protein accumulated exclusively in the insoluble fraction as inclusion bodies (Figure 3). This result indicates improper protein folding and suggests limited biological activity of the expressed protein in this host strain.

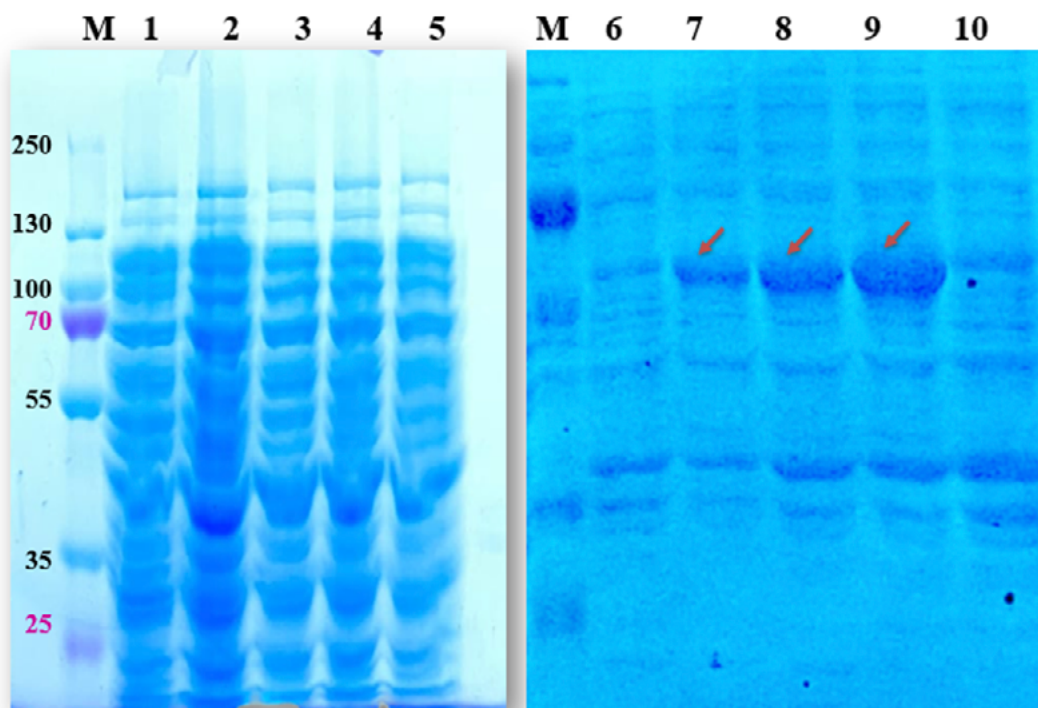


Figure 3. SDS-PAGE analysis of recombinant MUTYH expression in *E. coli* Rosetta (DE3) following IPTG induction for 2, 4, 6, and 16 hours. M – protein marker, lanes 1-5 soluble fractions; lanes 6-10 insoluble fractions corresponding to the indicated induction times.

Given the tendency of ArcticExpress(DE3) to improve the solubility of recombinant proteins at low temperatures, this strain was evaluated as an alternative host. Protein expression was induced at 15°C using 0.5 mM IPTG, with incubation times of 2, 4, 6, and 16 hours. In addition, an auto-induction strategy was tested by supplementing the growth medium with 0.2% glucose (Sigma-Aldrich) and 3% ethanol (Merck) to alleviate catabolite repression and enhance membrane permeability. However, SDS-PAGE analysis revealed that, similar to Rosetta(DE3), the majority of MUTYH protein in ArcticExpress(DE3) accumulated in the insoluble fraction, and no substantial increase in soluble protein was observed (Figure 4).

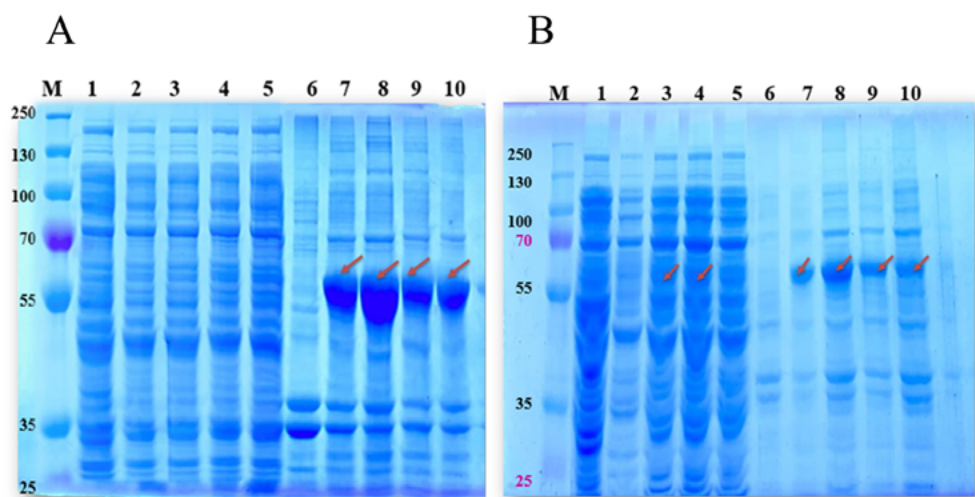


Figure 4. SDS-PAGE analysis of recombinant MUTYH expression in E.coli ArticExpress (DE3). (a) Induction with 0.5 mM IPTG at 15°C for 2, 4, 6, and 16 hours. (b) Auto-induction conditions with supplementation of glucose and ethanol.

Overall, these results demonstrate that, in both Rosetta(DE3) and ArcticExpress(DE3) strains, recombinant MUTYH predominantly formed insoluble inclusion bodies, indicating inefficient folding and limited functional expression.

To overcome this limitation, E. coli SHuffle® T7 Express was employed. This strain carries deletions in the *trxB* and *gor* genes, enabling the formation of disulfide bonds within the cytoplasm. Additionally, SHuffle cells overexpress the disulfide bond isomerase DsbC, which facilitates correction of mispaired disulfide bonds and promotes proper protein folding. Since the MUTYH protein contains two cysteine residues, the formation of correct disulfide bridges is critical for its functional conformation.

In SHuffle® T7 Express cells, recombinant MUTYH was predominantly detected in the soluble fraction, indicating successful folding and functional expression. To optimise expression conditions, IPTG concentrations of 0.1, 0.2, 0.3, and 0.5 mM were systematically evaluated. SDS-PAGE analysis revealed that induction with 0.2 mM IPTG resulted in the highest yield of soluble recombinant MUTYH protein.

Subsequently, the effect of induction time was examined using 0.2 mM IPTG, with incubation periods of 2, 4, 6, and 14-16 hours. Optimal expression was observed after 4 hours of induction, at which point the majority of the recombinant MUTYH protein was present in the soluble fraction (Figure 5). A distinct protein band corresponding to approximately 60 kDa was clearly visible, consistent with the expected molecular weight of His-tagged MUTYH.

The presence and correct synthesis of the recombinant protein were further confirmed by Western blot analysis. Proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane and probed with anti-His monoclonal antibodies. A specific immunoreactive band at approximately 60 kDa was detected exclusively in induced samples, confirming the expression of 6×His-tagged recombinant MUTYH protein.

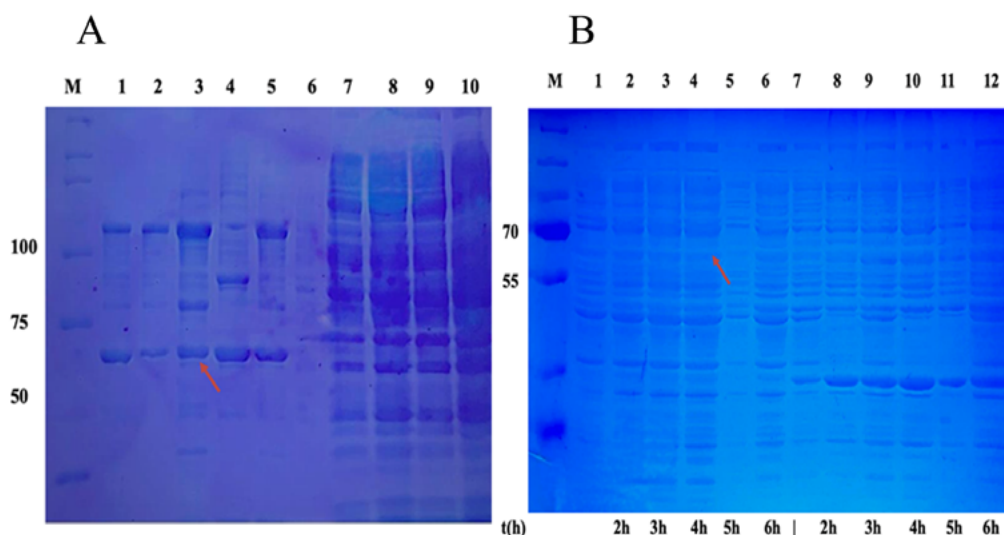


Figure 5. SDS-PAGE analysis of recombinant MUTYH expression in *E. coli* SHuffle® T7 Express. (a) Effect of IPTG concentration (0.1-0.5 mM) on recombinant MUTYH expression, after 15–16 hours of induction. (b) Time-course analysis of recombinant MUTYH expression following induction with 0.2 mM IPTG.

Purification of recombinant MUTYH protein

Following optimisation of expression conditions, soluble WT MUTYH was successfully purified from *E. coli* SHuffle® T7 Express cells using a two-step chromatographic strategy. After cell lysis and clarification, the soluble fraction containing recombinant MUTYH was subjected to Ni^{2+} -affinity chromatography. MUTYH bound efficiently to the HisTrap column and eluted as a well-defined, symmetrical peak upon application of an imidazole gradient, indicating homogeneous binding behaviour and minimal nonspecific interactions.

Analysis of the eluted fractions by SDS-PAGE revealed a dominant protein band with an apparent molecular mass of approximately 60 kDa, consistent with the predicted size of His-tagged WT MUTYH (Figure 6A). Minor contaminating proteins were largely removed during this initial affinity purification step.

To further improve protein purity, the pooled Ni^{2+} -eluted fractions were subjected to heparin affinity chromatography. MUTYH bound strongly to the heparin matrix and eluted at elevated salt concentrations during the NaCl gradient, consistent with its DNA-binding properties. SDS-PAGE analysis of the heparin-eluted fractions demonstrated a substantial increase in purity, with WT MUTYH appearing as a single, predominant band and only trace levels of residual contaminants (Figure 6 B).

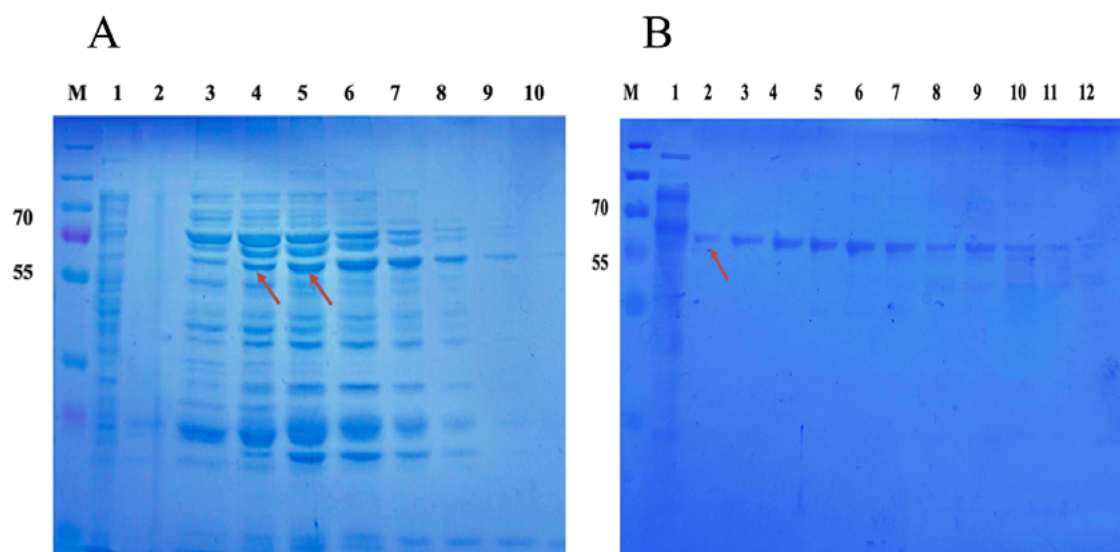


Figure 6: Purification of recombinant WT MUTYH expressed in E. coli SHuffle® T7 Express. (a) SDS-PAGE analysis of Ni²⁺-affinity (HisTrap) chromatography. (b) SDS-PAGE analysis of heparin affinity chromatography. M – protein molecular weight marker; lane 1 – non-induced cell lysate; lanes 2-10 – eluted fractions containing recombinant WT MUTYH.

The final purification yielded WT MUTYH with high homogeneity and good stability. The purified protein remained soluble and structurally intact upon storage at -80 °C in the presence of glycerol, enabling its use in subsequent biochemical, enzymatic, and functional assays.

Discussion

In this study, we established an optimized workflow for the expression and purification of recombinant human MUTYH in *Escherichia coli*. The choice of host strain proved to be critical for obtaining soluble protein. Both Rosetta(DE3) and ArcticExpress(DE3) strains produced predominantly insoluble MUTYH, likely due to misfolding and inclusion body formation, even when using low-temperature induction and autoinduction strategies. These results highlight the challenges associated with expressing eukaryotic DNA repair proteins in standard prokaryotic hosts.

SHuffle® T7 Express cells proved to be the most effective host for producing soluble MUTYH. The ability of this strain to form disulfide bonds in the cytoplasm, combined with over-expression of the disulfide isomerase DsbC, likely contributed to the proper folding of MUTYH, which contains cysteine residues important for structural stability. Optimization of IPTG concentration and induction time further increased soluble protein yield, with 0.2 mM IPTG and 4 hours of induction resulting in the highest soluble protein.

A two-step purification strategy combining Ni²⁺-affinity and heparin chromatography yielded highly pure, homogeneous, and structurally intact MUTYH. Ni²⁺-affinity chromatography effectively captured the His-tagged protein, while heparin chromatography removed residual impurities and exploited the DNA-binding properties of MUTYH to increase purity. The resulting protein remained soluble and structurally stable during storage, providing a reliable preparation for subsequent applications.

Recombinant MUTYH is suitable for biochemical and structural studies. The enzymatic activity of recombinant MUTYH has not yet been tested; future studies will focus on evaluating its DNA glycosylase activity using classical substrates containing A:8-oxoG, including fluorescently labeled 24AACy5/24ToG duplexes.

This work provides a reproducible and efficient method for producing soluble, structurally intact MUTYH, addressing common challenges in bacterial expression of eukaryotic DNA repair proteins. Given the key role of MUTYH in base excision repair and the prevention of mutagenic G:C→T:A transversions, this protocol provides a valuable platform for studying MUTYH function, elucidating mechanisms of genome maintenance, and investigating disease-associated variants relevant to colorectal cancer and other malignancies.

Conclusion

A special plan was made for making and cleaning up a special protein called MUTYH in a type of bacteria called *Escherichia coli*. SHuffle® T7 Express cells were the best for making soluble proteins. The most was made when they were triggered with 0.2 mM IPTG at 15°C for 4 hours. A two-step purification strategy combining Ni²⁺-affinity and heparin chromatography yielded highly pure, homogeneous, and structurally intact MUTYH.

The resulting protein is stable, soluble, and suitable for further biochemical and structural studies. This preparation can be used in future studies to evaluate how well enzymes work and how they interact with DNA, including the study of disease-related variants. This workflow provides a strong foundation for advancing studies into how MUTYH works and understanding the molecular mechanisms of MUTYH in genome maintenance and disease.

Author Contributions

U.B.S., A.A.K., A.A.A., U.B.S., K.O.S., M.K.S., and S.M.T. – conceptualization; U.B.S., A.A.K. and A.A.A. – scientific design development; U.B.S., A.A.A., K.O.S., M.K.S., and S.M.T. – implementation of the declared scientific research.

Funding

This work was prepared within the framework of U.B. Sarsenbayeva's dissertation project «Development of a method for detecting the activity of mismatch-specific adenine-DNA glycosylases for the study of aberrant repair in cancer cells» and was supported by Abai-Verne Scholarship Program of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, and the Ministry of Europe and Foreign Affairs of the French Republic supported U. Sarsenbayeva and A. Almasbekova. The funding agencies did not influence the content of this review.

Conflicts of Interest

Authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards

This article does not contain a description of studies performed by the authors involving people or using animals as objects

References

1. Trasviña-Arenas C.H., Dissanayake U.C., Tamayo N., et. al. Structure of human MUTYH and functional profiling of cancer-associated variants reveal an allosteric network between its [4Fe-4S] cluster cofactor and active site required for DNA repair. *Nature Communications*. 2025;16:3596. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-58361-w>
2. Banda D.M., Nuñez N.N., Burnside M.A., et. al. Repair of 8-oxoG: A mismatches by the MUTYH glycosylase: mechanism, metals and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017;107:202–215. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.008>
3. Nuñez N.N., Majumdar C., Lay K.T., et. al. Fe-S clusters and MutY base excision repair glycosylases: purification, kinetics and DNA affinity measurements. *Methods in Enzymology*. 2018;599:21–68. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2017.11.035>
4. Wallace S.S., Murphy D.L., Sweasy J.B. Base excision repair and cancer. *Cancer Letters*. 2012;327(1–2):73–89. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.12.038>
5. Jacobs AL, Schär P. DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. *Chromosoma*. 2012;121(1):1–20. <https://doi.org/10.1007/s00412-011-0347-4>
6. Nakamura T, Okabe K, Hirayama S., et. al. Structure of the mammalian adenine DNA glycosylase MUTYH: insights into the base excision repair pathway and cancer. *Nucleic Acids Research*. 2021; 49(12):7154–7163. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab492>
7. Sugako Oka, Yusaku Nakabeppu DNA glycosylase encoded by MUTYH functions as a molecular switch for programmed cell death under oxidative stress to suppress tumorigenesis. *Cancer Science*. 2011;102(4):677–682. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.01869.x>
8. Kairupan C, Scott RJ. Base excision repair and the role of MUTYH. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. 2007;5(4):199–209. <https://doi.org/10.1186/1897-4287-5-4-199>
9. Sampson JR, Nielsen M. MUTYH-associated polyposis (MAP). *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2009;23(2):209–218. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.03.006>
10. Cheadle JP, Sampson JR. MUTYH-associated polyposis – from defect in base excision repair to clinical genetic testing. *DNA Repair (Amsterdam)*. 2007;6(3):274–279.
11. Al-Tassan N., Chmiel N.H., Maynard J., et. al. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors. *Nature Genetics*. 2002;30(2):227–232. <https://doi.org/10.1038/ng828>
12. Markkanen E, Thomas A, et al. MUTYH DNA glycosylase: the rationale for removing undamaged bases from the DNA. *Frontiers in Genetics*. 2013;4:18. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00018>
13. Gohil D, Sarker AH, Roy R. Base excision repair: mechanisms and impact in biology, disease, and medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(18):14186. <https://doi.org/10.3390/ijms241814186>
14. Hegde ML, Hazra TK, Mitra S. Base excision repair and its role in maintaining genome stability. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2008;43(4):239–276. <https://doi.org/10.1080/10409230802309905>
15. Krokan H.E., Bjorås M. Base excision repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2013;5(4):a012583. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012583>
16. Dizdaroglu M., Coskun E., Jaruga P. Repair of oxidatively induced DNA damage by DNA glycosylases: mechanisms of action, substrate specificities and excision kinetics // *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. – 2017. – Vol. 763. – P. 212–245. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.02.001>
17. David S.S., O’Shea V.L., Kundu S., et. al. Base-excision repair of oxidative DNA damage.

Nature. 2007;447(7147):941–950. <https://doi.org/10.1038/nature05978>

18. Grasso F., Di Meo S., De Luca G. et al. The MUTYH base excision repair gene protects against inflammation-associated colorectal carcinogenesis // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, No. 27. – P. 19671–19684. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4284>.

19. Wallace S. S. Base excision repair: a critical player in many games // *DNA Repair*. – 2014. – Vol. 19. – P. 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.02.011>

20. Trasviña-Arenas C. H., Demir M. et.al. Structure, function and evolution of the helix–hairpin–helix DNA glycosylase superfamily: piecing together the evolutionary puzzle of DNA base damage repair mechanisms // *DNA Repair*. – 2021. – Vol. 108. – Art. 103231. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2021.103231>

Эффективная экспрессия и очистка рекомбинантного белка MUTYH в *Escherichia coli*

**У. Б. Сарсенбаев¹, А.А. Кұнанбаева², А.А. Алмасбекова³,
К.О. Шарипов⁴, М.К. Сапарбаев⁵, С.М. Тайпакова⁶**

^{1,2,3,5,6} *Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан*

^{1,3,4} *М. А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология
және биохимия институты, Алматы, Қазақстан*

^{1,3,4} *С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті,
Алматы, Қазақстан*

^{5,6} *Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Биология және биотехнология
мәселелері ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан.*

⁵*Густав Русси онкологиялық орталығының «ДНК репарация механизмдері және
канцерогенез» зертханасы, CNRS UMR⁹⁰¹⁹ зерттеу бөлімшесі, Вильжюи, Франция.*

Аннотация. MUTYH – это ДНК-гликозилаза, участвующая в процессе эксцизионной репарации оснований (BER), ответственная за распознавание и удаление аденина, неправильно соединенного с 8-оксогуанином. Патогенные варианты или нарушение функции MUTYH связаны с полипозом, ассоциированным с MUTYH, и повышенным риском развития колоректального рака. Рекомбинантная продукция MUTYH необходима для биохимических и структурных исследований. В этом исследовании мы разработали и оптимизировали протокол экспрессии и очистки рекомбинантного белка MUTYH человека, слитого с N-концевой меткой 6×His. Конструкции дикого типа были клонированы в экспрессирующий вектор pET-28с и экспрессированы в штаммах *Escherichia coli* Rosetta (DE3), ArcticExpress(DE3) и SHuffle® T7 Express. Низкотемпературная индукция и оптимизированные концентрации IPTG улучшили растворимость белка. Рекомбинантный MUTYH очищали с помощью Ni²⁺ - аффинной хроматографии с последующей аффинной хроматографией с гепарином. Анализы SDS-PAGE и Вестерн-блоттинга подтвердили высокий уровень экспрессии и эффективное выделение рекомбинантного белка, при этом значительная часть была выделена в растворимой форме. Оптимизированный рабочий процесс обеспечивает воспроизводимый метод получения очищенного MUTYH, пригодного для последующих биохимических и структурных исследований. В будущем мы планируем оценить его ферментативную активность.

Ключевые слова: репарация ДНК, MUTYH, эксцизионная репарация оснований (BER), окислительное повреждение ДНК, рекомбинантная экспрессия белков, аффинная хроматография, колоректальный рак.

Escherichia coli жүйесінде рекомбинантты MUTYH белогының тиімді экспрессиясы мен тазартылуы

**У. Б. Сарсенбаев¹, А.А. Құнанбаева², А.А. Алмасбекова³,
К.О. Шарипов⁴, М.К. Сапарбаев⁵, С.М. Тайпакова⁶**

^{1,2,3,5,6} *Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан*
^{1,3,4} *Института молекулярной биологии и биохимии имени М.А.Айтхожина, Алматы, Казахстан*

^{1,3,4} *С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан*

^{5,6} *Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Биология және биотехнология мәселелері ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан.*

⁵ *Лаборатория «Механизмы репарации ДНК и канцерогенеза» Онкологического Центра Густава Русси, Вильжюиф 94800, Франция.*

Аңдатпа. MUTYH – негіздердің эксцизиялық репарациясы (BER) жолына қатысатын ДНҚ гликозилаза болып табылады және 8 оксогуанинмен қате жұптасқан аденинді тану мен алып тастауға жауап береді. MUTYH функциясының бұзылуы немесе патогенді нұсқаларының болуы MUTYH-пен ассоциацияланған полипозбен және колоректалды қатерлі ісіктің даму қаупінің жоғарылауымен байланысты. MUTYH ақуызының рекомбинантты түрде алынуы оны биохимиялық және құрылымдық тұрғыдан зерттеу үшін аса маңызды. Бұл зерттеуде N-соңында 6xHis таңбасы бар адамның рекомбинантты MUTYH белогының экспрессиясы мен тазартылуына арналған протокол әзірленіп, оңтайландырылды. Жаабйы типті MUTYH конструкциялары pET28c экспрессиялық векторына клондалып, Escherichia coli Rosetta (DE3), ArticExpress(DE3) және SHuffle® T7 Express штамдарында экспрессияланды. Төмен температура жағдайында индукция және IPTG концентрацияларын оңтайландыру белок ерігіштігін арттыруға мүмкіндік берді. Рекомбинантты MUTYH Ni²⁺ - аффинді хроматография арқылы тазартылды. SDS-PAGE және Вестерн-блот талдаулары рекомбинант белоктың жоғары деңгейде экспрессияланғанын және тиімді тазартылғанын, сондай-ақ оның едәуір бөлігі ерігіш күйде алынғанын көрсетті. Оңтайландырылған жұмыс протоколы биохимиялық және құрылымдық зерттеулерге жарамды тазартылған MUTYH белогын алудың қайтанымызды әдісін қамтамасыз етеді. Болашақта оның ферментативтік белсенділігін бағалау жоспарлануда.

Түйін сөздер: ДНҚ репарациясы, MUTYH, негіздердің эксцизиялық репарациясы (BER), ДНҚ-ның тотығу арқылы зақымдалуы, рекомбинантты белок экспрессиясы, аффинді хроматография, колоректалды қатерлі ісік.

Сведения об авторах:

Сарсенбаева Улан Базарбаевна – автор-корреспондент, PhD докторант кафедры биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, ассистент кафедры биохимии Казахского национального медицинского университета имени С.Д. Асфендиярова, ул. Толе Би 94, Алматы 050000, Казахстан.

Құнанбаева Алуа Аббаевна – студент кафедры молекулярной биологии и генетики Казахского национального университета имени аль-Фараби, проспект аль – Фараби, 71, Алматы 050040, Казахстан.

Алмасбекова Адина Аширхановна – PhD докторант кафедры биофизики, биомедицины и нейронаук Казахского национального университета имени аль-Фараби, ассистент кафедры биохимии Казахского национального медицинского университета имени С.Д. Асфендиярова, ул. Төле Би 94, Алматы 050000, Казахстан.

Шарипов Камалидин Орынбаевич – доктор биологических наук, профессор, генеральный директор института молекулярной биологии и биохимии имени М.А.Айтхожина, ул. Досмухамедова, 86, Алматы 050012, Казахстан.

Сапарбаев Мурат Калиевич – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией «Механизмы репарации ДНК и канцерогенеза» Онкологического Центра Густава Русси, Вильжюиф 94800, Франция.

Тайпакова Сабира Мыктыбековна – доцент кафедры молекулярной биологии и генетики Казахского национального университета имени аль-Фараби, проспект аль – Фараби, 71, Алматы 050040, Казахстан.

Авторлар туралы мәліметтер:

Сарсенбаева Улан Базарбаевна – автор-корреспондент, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биотехнология кафедрасының PhD докторанты, С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің биохимия кафедрасының ассистенті, Төле би көшесі 94, Алматы 050000, Қазақстан.

Құнанбаева Алуа Абайқызы - әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің молекулалық биология және генетика кафедрасының студенті, әл-Фараби даңғылы, 71, Алматы 050040, Қазақстан.

Алмасбекова Адина Әшірханқызы –әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биофизика, биомедицина және нейроғылымдар кафедрасының PhD докторанты, С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің биохимия кафедрасының ассистенті, Төле би көшесі 94, Алматы 050000, Қазақстан.

Шарипов Камалидин Орынбаевич – биология ғылымдарының докторы, профессор, М. А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының бас директоры, Досмұхамедов көшесі, 86, Алматы 050012, Қазақстан.

Сапарбаев Мурат Калиевич – биология ғылымдарының кандидаты, Густав Русси онкологиялық орталығының «ДНК репарация механизмдері және канцерогенез» зертханасының меңгерушісі, Вильжюиф 94800, Франция.

Тайпақова Сабира Мықтыбекқызы – әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің молекулалық биология және генетика кафедрасының доценті, әл-Фараби даңғылы, 71, Алматы 050040, Қазақстан.

Authors' information:

Ulan Sarsenbayeva – Corresponding author, PhD doctoral student, Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Assistant at the Department of Biochemistry at the S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, 94 Tole Bi str., Almaty 050000, Kazakhstan.

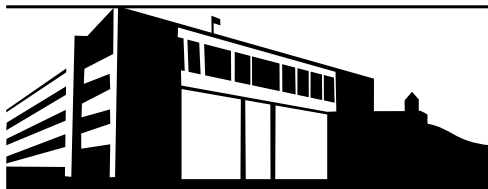
Alua Kunanbayeva –bachelor student, Department of molecular biology and genetics, Kazakh National University named after al-Farabi, 71 al-Farabi Avenue, Almaty 050040, Kazakhstan.

Almasbekova Adina – PhD student, Department of Biophysics, Biomedicine and Neuroscience, Kazakh National University named after al-Farabi, assistant at the Department of Biochemistry at the Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, 94 Tole Bi str., Almaty 050000, Kazakhstan.

Sharipov Kamalidin – Doctor of Biological Sciences, Professor, M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, 86 Dosmukhamedov St., Almaty 050012, Kazakhstan.

Saparbayev Murat – Candidate of Biological Sciences, Head of the DNA Repair Laboratory, Gustave Rossi Cancer Center, Villejuif 94800, France.

Taipakova Sabira – Associate Professor, Department of Molecular Biology and Genetics, Al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi Avenue, Almaty 050040, Kazakhstan.



МРНТИ 34.23.21

Научная статья

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-91-110>

Влияние индуцированного мутагенеза диэтилсульфатом на количественные признаки растений проса поколения М₁

**Э.Н. Дюсибаева¹ , А.Б. Рысбекова² , М.М. Абылкаирова³ ,
А.Е. Зейнуллина⁴ , Н.А. Сарбасова^{*5} , А.Е. Оразов⁶ , Г.Т. Есенбекова⁷**

^{1,2,3,4,5,7} Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина

⁶ Международный университет Астана

E-mail: ¹e.dyussibayeva@kazatu.edu.kz, ²a.rysbekova@kazatu.edu.kz,
³margarita.abkv@gmail.com, ⁴aiym_92@mail.ru, ⁵nuriyasarbassova01@gmail.com,
⁶orazov_aidyn@mail.ru, ⁷gulzat_es@mail.ru

Аннотация. Просо обыкновенное (*Panicum miliaceum* L.) – важная сельскохозяйственная культура, используемая в пищевых и промышленных целях. По итогам многих исследований было обнаружено, что индуцированные мутации с помощью ДЭС (диэтилсульфатом) являются весьма полезным методом улучшения сельскохозяйственных культур. Кроме того, целенаправленное использование индуцированных мутаций в селекции растений стало одним из эффективных подходов в селекции растений. В настоящей статье приведены результаты по изучению обработки семян проса различными концентрациями мутагена. Данное исследование было проведено в лабораторных и полевых условиях с целью определения влияния ДЭС в качестве мутагена на первое поколение М₁. В полевых экспериментах учитывались: высота растения (см), полевая всхожесть (%), продуктивная кустистость (шт/1 раст.), число семян с метелки (шт), масса зерна с метелки (г), число семян с растения (шт), масса зерна с растения (г), масса 1000 семян (г), урожайность зерна (г/м²), продолжительность вегетационного периода (сутки). Построенная матрица корреляций на основе значимых связей ($r \geq 0,65$; $p < 0,05$) наглядно отразила структуру тесных взаимосвязей между признаками и их дифференциацию на два функциональных модуля как реакцию на обработку мутагеном. Все параметры были оценены и показали значительные различия между различными концентрациями мутагенных обработок. Было обнаружено, что ДЭС довольно эффективно индуцирует генетическую изменчивость уже в первом поколении М₁. Результаты выявили значительные различия по всем изученным признакам.

Поступила: 19.01.2026. Одобрена: 25.06.2026. Доступна онлайн: 30.06.2026

*Автор-корреспондент

Исследование также показало, что использование данного химического агента является эффективным подходом для создания улучшенных сортов *Panicum miliaceum* L.

Ключевые слова: *P. miliaceum* L., мутагенез, диэтилсульфат, морфометрические параметры, хозяйственно-ценные признаки

Введение

Просо (*Panicum miliaceum* L.) относится к семейству злаковых. Просо возникло в Восточной Азии и далее было распространено кочевниками по торговым путям в остальные части Евразии и на другие континенты [1-5]. Просо – важнейшая культура с точки зрения питания и корма. Просо легко адаптируется к высокогорным районам и выращивается в Гималаях на высоте до 3000 м над уровнем моря [6-8]. Просо обладает высокой урожайностью, а его зерна могут храниться годами без появления вредителей, что делает его идеальным продовольственным зерном для регионов, подверженных голоду [9]. Согласно Mehandi S., et al. (2013) высота растений, количество соцветий на растении и количество метелок на растении демонстрируют высокую наследуемость в сочетании с высоким или умеренным генетическим прогрессом в процентах от среднего, который может быть улучшен путем простого отбора растений [10]. Наличие генетического разнообразия является предпосылкой для генетического улучшения сельскохозяйственной культуры [11-15].

Существует большое генетическое разнообразие между сортами проса посевного. Помимо наличия генетического разнообразия, их характеристика необходима для эффективного использования при улучшении сельскохозяйственных культур [16-18]. Мутационная селекция является сравнительно более быстрым методом улучшения сельскохозяйственных культур. Было замечено, что индуцированные мутации могут повышать урожайность, а также улучшать другие количественные признаки растений [19, 20]. Большинство программ улучшения сельскохозяйственных культур, предпринятых с помощью традиционных методов селекции, использовали только естественную изменчивость. В стандартном генофонде недостаточно изменчивости для модификации растений. Индуцированный мутагенез может быть эффективно использован в качестве альтернативы для индукции изменчивости морфологических и физиологических признаков. Искусственное введение мутаций в сельскохозяйственных культурах достигается за счет использования физических и химических мутагенов, которые увеличивают частоту мутаций по сравнению со спонтанными мутациями [21]. Так, у алкилирующих агентов (этилметансульфонат (ЭМС), нитрозометилмочевина (НММ), азид натрия и колхицин) механизм воздействия проявляется в точечных мутациях (транзиции, трансверсии) и хромосомных aberrациях. Подобные типы мутации случайным образом могут сдвигать средние значения количественных признаков (высота, озерненность, масса 1000 семян) и резко расширяют генетическое разнообразие проса для отбора [22]. Несмотря на обширную литературу по мутагенезу мелкозерновых культур, в последующих поколениях M2-M3 до сих пор остается неизученным вопрос быстрой оценки первичной генотипической реакции (доминантных и физиологических эффектов) на химический агент ДЭС у современных высокопродуктивных сортов проса, так как существующие работы описывают лишь финальные фенотипы стабильных линий, упуская из виду динамику индуцированной изменчивости непосредственно в первом поколении M1. Настоящее исследование впервые восполняет данный пробел, показывая эффективность воздействия ДЭС на ранней

стадии, что позволяет оптимизировать затраты на следующий масштабный скрининг в последующих поколениях генотипов проса.

В связи с этим, целью данных исследований являлось изучение влияния различных концентраций ДЭС на морфологические и продуктивные признаки растений поколения М₁.

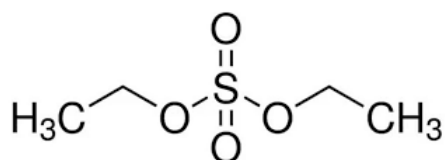
Материалы и методы исследования

Растительный материал

В 2025 г. для исследований с экспериментальным мутагенезом объектом исследований были семена проса рабочей селекционной коллекции, собранной Казахским агротехническим исследовательским университетом имени С.Сейфуллина.

Химический мутаген

В качестве химического агента был использован диэтилсульфат (Diethyl sulfate 98%, ThermoFisher, Kandel, Germany). Диэтилсульфат (ДЭС) - органическое соединение, сложный эфир серной кислоты и этилового спирта с химической формулой (C₂H₅)₂SO₄:



Обработка семян химическим мутагеном

Для обработки семена предварительно замачивали в дистиллированной воде в течение 12 часов при комнатной температуре, чтобы сделать их более чувствительными к мутагенному воздействию.

Затем семена высушивали на фильтровальной бумаге. С целью индуцирования мутагенеза семена замачивали в растворах диэтилсульфата с различными концентрациями: 10, 30 и 50 мМ. Все семена были равномерно обработаны. Здоровые, хорошо вызревшие и необработанные семена использованы в качестве контроля. После обработки семена тщательно промывали дистиллированной водой, высушивали на воздухе и хранили для дальнейших исследований [22-24].

В лабораторных условиях контрольные и обработанные семена проращивали в термостате при температуре +25 °С. Через семь дней измеряли морфометрические параметры: лабораторная всхожесть (ЛВ), длина coleoptily (ДКЛ), длина проростков (ДП), длина корешков (ДК), биомасса растений (БР).

В полевых условиях были заложены опыты на экспериментальных участках ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А. И. Бараева» (Акмолинская область, Шортандинский район). Полевые опыты производили по последовательным блочным схемам с тремя повторами для увеличения популяции М₁, размер деланки составлял 0,5 м² с нормой высева 3,5 г/м² согласно рекомендациям по агротехнологии региона. В размещении деланок первым номером сеялся контрольный вариант: 0мМ, а затем последующие в зависимости от концентрации мутагена: 10, 30 и 50 мМ.

Обработанные семена предварительно замачивали в дистиллированной воде и высевали вручную вместе с контрольными. Все рекомендуемые агротехнические мероприятия выполнялись в течение периода роста и развития растений поколения М₁.

Все выжившие растения М1 были собраны для определения средних хозяйственно-ценных количественных и качественных показателей культуры проса: полевая всхожесть (ПВ), высота растений (ВР), продуктивная кустистость (ПК), число семян с метелке (ЧСМ), масса семян с метелке (МСМ), число семян с растения (ЧСР), масса семян с растения (МСР), масса 1000 семян (МТС), урожайность зерна (УЗ), продолжительность вегетационного периода (ПВП). С каждого варианта было отобрано по 25 растений.

Статистический анализ данных. Для статистической обработки использовались данные лабораторных, полевых, морфологических и продуктивных показателей растений, полученных для различных генотипов при четырёх концентрациях обработки (0, 10, 30 и 50 ммоль). Обработку данных выполняли методом дисперсионного анализа (ANOVA). Из-за специфики исследований (гибели некоторых вариантов при высоких концентрациях мутагена) анализ проводили по сбалансированным блокам данных выживших генотипов. Достоверность различий оценивали по критерию наименьшей существенной разности (HCp_{05}) при уровне значимости $p \leq 0,05$. В анализ были включены показатели лабораторной всхожести и начального роста (LGER, LCOL, LSDL, LROT, LBIO), полевые морфологические признаки (FHGT, FTIL), а также элементы структуры урожая и продуктивности (FSPN, FMPN, FSPT, FMPT, FTSW, FGSD, FGSD) (табл. 1).

Таблица 1

Расшифровка лабораторных и полевых показателей, используемых в статистической обработке данных

№	Полное наименование показателя	Аббревиатура	Единица измерения
Лабораторные работы			
1	Лабораторная всхожесть	LGER	%
2	Длина coleoptilya	LCOL	См
3	Длина проростков	LSDL	См
4	Длина корешков	LROT	См
5	Биомасса растений	LBIO	Г
Полевые работы			
6	Сохранность растений	FEMG	%
7	Высота растений	FHGT	см
8	Продуктивная кустистость	FTIL	колич.метелок/1 раст
9	Количество семян на метелку	FSPN	шт
10	Масса семян на метелку	FMPN	Г
11	Количество семян на растение	FSPT	шт
12	Масса семян на растение	FMPT	Г
13	Масса 1000 семян	FTSW	Г
14	Семенная продуктивность	FGYD	г/м ²
15	Продолжительность вегетации	FGSD	Сутки

Анализ главных компонент (РСоА). Анализ главных компонент (Principal Component Analysis, РСоА) был проведён с целью выявления основных градиентов вариативности признаков. РСоА выполнялся на основе матрицы стандартизированных переменных. Для интерпретации результатов использовались две главные компоненты, объясняющие

наибольшую долю общей дисперсии. Результаты визуализировались в виде biplot-диаграмм, включающих одновременно координаты образцов (scores) и векторы нагрузок признаков (loadings). Это позволило оценить вклад отдельных показателей в формирование главных компонент и пространственное распределение генотипов в зависимости от дозы обработки.

Метод частично-наименьших квадратов (PLS). Для оценки связи между совокупностью признаков и урожайностью зерна применялся метод частично-наименьших квадратов (Partial Least Squares regression, PLS). В качестве зависимой переменной использовалась урожайность зерна (FGYD), тогда как независимыми переменными служили лабораторные, морфологические и продуктивные показатели. Оценка качества модели проводилась с использованием перекрёстной проверки (cross-validation), что позволило сопоставить наблюдаемые и предсказанные значения урожайности. Результаты визуализировались диаграммой «наблюдаемое – предсказанное», включая линию 1:1 для оценки точности модели и выявления возможных отклонений для отдельных комбинаций генотип $\times$ доза.

Корреляционный анализ. Корреляционный анализ между всеми парами признаков выполнялся с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Для контроля ошибки множественных сравнений применялась поправка Бенджамини–Хохберга (False Discovery Rate, FDR). Значимыми считались корреляции при $p < 0,05$ после коррекции. Результаты корреляционного анализа представлены в виде корреляционной матрицы, где значения коэффициентов корреляции дополнительно кодировались цветовой шкалой, отражающей силу и направление связей между признаками.

Корреляционная сеть. На основе матрицы корреляций была построена корреляционная сеть для наглядного представления наиболее сильных и статистически значимых взаимосвязей между признаками. В сеть включались только связи с абсолютным значением коэффициента корреляции $|r| \geq 0,65$ и уровнем значимости $p < 0,05$. Узлы сети соответствовали отдельным признакам, а рёбра отражали наличие сильных положительных корреляций между ними. Анализ структуры сети позволил выявить функциональные кластеры признаков, характеризующие лабораторные показатели раннего онтогенеза и блок полевых морфологических и продуктивных характеристик.

Программное обеспечение. Все статистические анализы и графические визуализации выполнялись в приложении R (версия $\geq 4.2.0$) с использованием специализированных пакетов для многомерного анализа и визуализации данных (включая пакеты для PCoA, PLS-регрессии, корреляционного).

Результаты

В лабораторных условиях были изучены воздействия обработки семян диэтилсульфатом ДЭС на морфометрические показатели 10 сортообразцов, подобранных среди отечественной и зарубежной коллекции проса (табл. 2).

Таблица 2

Результаты модельных опытов с использованием ДЭС

Наименование генотипа	Концентрации, мМ	ЛВ, %	ДКЛ, см	ДП, см	ДК, см	БР, г
Памяти Берсиева	0,0	74,3	7,96	9,00	5,56	0,039
	10	72,5	4,00	4,90	6,50	0,017
	30	72,0	6,33	7,46	4,46	0,057
	50	68,8	5,80	6,00	2,80	0,037
Шортандинское 11	0,0	75,5	8,24	9,56	5,30	0,098
	10	73,5	9,00	9,96	3,33	0,120
	30	70,7	9,20	10,55	3,80	0,111
	50	65,5	8,10	9,67	4,73	0,087
Саратовское 6	0,0	72,5	7,50	9,00	4,00	0,021
	10	73,4	6,66	7,91	5,74	0,409
	30	70,5	3,30	3,50	2,60	0,013
	50	*	*	7,75	2,30	0,013
Давское	0,0	74,8	7,25	9,25	3,25	0,065
	10	68,5	4,37	5,15	2,80	0,061
	30	60,6	9,71	11,22	4,45	0,215
	50	29,3	7,00	8,16	4,33	0,081
Ильиновское	0,0	72,2	7,49	8,20	4,89	0,427
	10	68,2	8,85	9,99	6,48	0,443
	30	*	*	*	*	*
	50	*	*	*	*	*
Жадинское	0,0	71,4	9,57	11,59	13,27	0,292
	10	70,2	8,73	9,66	6,08	0,385
	30	60,8	2,17	2,56	3,25	0,450
	50	49,5	7,34	8,52	6,70	0,440
К-9703	0,0	69,3	8,21	8,70	5,31	0,451
	10	55,3	8,47	8,69	5,56	0,243
	30	*	*	*	*	*
	50	*	*	*	*	*
К-10215	0,0	72,6	3,39	4,39	4,79	0,129
	10	*	*	*	*	*
	30	69,7	5,25	5,60	1,75	0,021
	50	10,0	3,125	3,47	1,375	0,042
PI 177481	0,0	70,5	4,25	5,23	4,39	0,045
	10	*	*	*	*	*
	30	25,9	9,00	10,45	6,20	0,061
	50	*	*	*	*	*

PI 211058	0,0	74,3	7,60	8,46	5,00	0,155
	10	72,2	7,25	8,75	4,93	0,213
	30	23,6	6,08	11,20	3,80	0,023
	50	*	*	*	*	*
НСР ₀₅		13,0	3,75	4,18	3,66	0,071

Примечание: *- не проросшие варианты; ЛВ – лабораторная всхожесть; ДКЛ - длина калеоптиля; ДП - длина проростков; ДК - длина корешков; БР - биомасса растений.
НСР₀₅ - наименьшая существенная разность для оценки влияния фактора «Концентрация ДЭС» при $p \leq 0,05$.

Лабораторная всхожесть (ЛВ, %) показала, что обработанные генотипы были ниже контрольных вариантов практически у всех испытанных мутантных образцов на 1,2-50,7%. Однако у сорта Саратовское 6 с концентрацией обработки 10 мМ ЛВ была выше стандарта на 0,9% и составила 73,4% всхожих семян.

Длина колеоптиля (ДКЛ, см) у 6 обработанных мутагеном сортов и образцов оказалась ниже контрольных вариантов, хотя сорт Шортандинское 11 при концентрациях в 10, 30 мМ; Давское при 30 мМ и образец PI 177481 при 30 мМ выделились по данному показателю. Длина колеоптиля составила 9,0-9,71 см, что выше на 0,1-4,75 см.

У длин проростков (ДП, см) и корешков (ДК), при измерении также наблюдалась аналогичная тенденция: с повышением концентрации мутагена показатели снизились с 1,05 до 9,03 см. По данным показателям выделились образцы: Шортандинское 11 при 10, 30 мМ, Давское при 30 мМ, Ильиновское 10 мМ, PI 177481 при 30 мМ и PI 211058 при 30 мМ, их длина составила 10,55 см, 9,67 см, 11,22 см, 9,99 см, 10,45 и 11,20 см, соответственно (Рис.1).

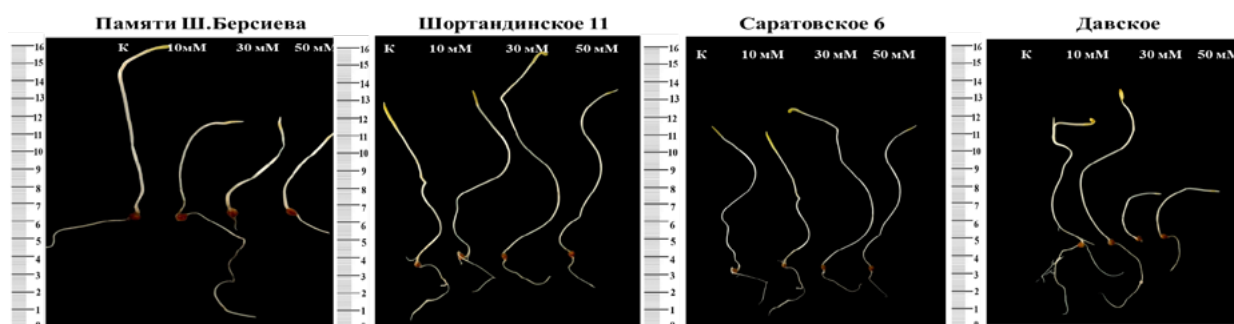


Рисунок 1. Проростки проса при разных концентрациях ДЭС

Биомасса растений (БР, г) является одним из важных морфометрических показателей. Образец Саратовское 6, подвергнутый обработке с концентрацией 10 мМ, показал наивысший результат 0,409 г, что выше контроля на 0,388 г.

Семена сортов Саратовское 6, Ильиновское и образцов К-9703, PI 177481 и PI 211058 не взошли при высокой концентрации обработкой ДЭС 50 мМ.

В полевых условиях были заложены опыты идентичными лабораторным вариантам с обработкой ДЭС. В течении вегетации 2025 г. проводились наблюдения за ростом и развитием популяции М1. В сентябре на стадии полного созревания, каждый вариант опыта был собран вручную с маркированием отдельных снопов мутантных образцов для анализа элементов продуктивности. Анализ продуктивных элементов урожайности включал в себя оценку и сопоставление ключевых показателей, таких как количество продуктивных стеблей, число зерен в метелке, масса 1000 зерен и масса зерна с метелки (табл. 3).

Таблица 3

**Результаты полевых наблюдений и структурного анализа
элементов продуктивности популяций М1**

Генотипы	Концентрации, мМоль	ПВ, %	ВР, см	ПК, шт/1 раст	ЧСМ, шт	МСМ, г	ЧСР, шт	МСР, г	МТС, г	УЗ, г/ м ²	ПВП, сутки
Памяти Берсиева	К	62	98	2,0	506	8,96	2356	26,8	8,3	149,4	85
	10	12	95	1,0	444	6,0	509	6,8	8,7	29,8	82
	30	4	93	2,0	386	4,9	407	5,1	8,0	12,0	82
	50	8	95	1,0	302	4,2	395	4,9	8,0	23,0	83
Шортандинское 11	К	58	115	2,4	685	10,36	2674	21,4	8,6	155,8	89
	10	32	98	1,0	405	4,1	506	5,0	8,3	45,1	87
	30	52	98	1,0	405	4,1	506	5,0	8,3	45,1	87
	50	16	89	1,0	505	4,9	608	5,5	8,6	25,1	88
Саратовское 6	К	50	106	1,4	709	8,6	2281	18,3	8	34,7	87
	10	20	75	1,1	205	3,1	255	3,8	7,8	12,9	86
	30	48	72	1,3	109	2,9	188	3,0	7,7	11,6	86
	50	28	72	1,3	155	2,7	173	2,9	7,5	11,9	86
Давское	К	32	108	2	734	5,8	4032	32,2	8	61,18	89
	10	4	75	1,1	205	2,1	255	3,3	7,8	12,9	89
	30	20	72	1,3	109	2,3	188	3,0	7,7	11,6	88
	50	20	72	1,3	153	2,1	173	2,8	7,5	11,9	89
Ильиновское	К	48	99	3,2	863	6,9	4315	34,5	8	65,55	88
	10	8	75	1,1	205	1,1	255	3,8	7,8	12,9	88
	30	32	72	1,3	109	1,9	188	3,0	7,7	11,6	87
	50	28	72	1,3	155	1,7	173	2,9	7,5	11,9	87
Жадинское	К	28	101	2,2	420	4,1	708	22,1	8,9	41,99	89
	10	24	95	1,9	302	3,9	352	4,1	8,9	9,9	82
	30	24	98	2,5	569	8,5	1102	28,9	10,5	128	82
	50	32	97	1,1	403	8,3	459	7,7	9,3	10,3	82
К-9703	К	28	89	1,4	925	5,55	1732	10,5	6	19,95	87
	10	40	75	1,1	205	3,1	255	3,8	7,8	12,9	87
	30	12	72	1,2	109	2,9	188	3,0	7,7	11,6	87
	50	8	72	1,0	155	2,7	173	2,9	7,5	11,9	87

K-10215	К	40	99	2,2	2863	6,9	885	34,5	8	65,55	88
	10	20	75	1,1	205	3,1	255	3,8	7,8	12,9	86
	30	16	72	1,3	109	2,9	188	3,0	7,7	11,6	86
	50	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
PI 177481	К	10	86	2,1	954	8,5	852	18,6	8	15,6	84
	10	20	75	1,1	159	3,1	165	3,8	7,8	12,9	84
	30	16	72	1,3	99	1,9	109	2,0	5,7	11,6	80
	50	8	72	1,3	95	0,7	173	1,8	5,5	11,9	80
PI 211058	К	44	105	2,2	995	8,6	975	27,8	8	52,82	85
	10	8	75	1,1	205	2,1	355	3,8	7,8	12,9	85
	30	16	72	1,3	109	1,9	178	3,0	7,7	9,6	85
	50	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
НСР ₀₅	-	13,9	6,4	0,4	173,8	1,8	732	6,1	0,6	34,0	1,3
Примечание: * - не проросшие варианты; НСР ₀₅ - наименьшая существенная разность для оценки влияния фактора «Концентрация ДЭС» при $p \leq 0,05$.											

По результатам структурного анализа отдельных элементов продуктивности выявлено угнетающее воздействие практически на все рассматриваемые показатели, особенно на полевую всхожесть. Процент выживших растений варьировался от 2% до 40%. Было отмечено постепенное понижение высоты растений с увеличением концентрации мутагенов в поколениях М₁ по сравнению с контролем: при концентрациях 10 мМ длина растений в среднем составила 18,8%; при 30 мМ - 22,4 %; при 50 мМ - 14%. Семена двух образцов (K-10215 и PI 211058) не взошли или их проростки не выжили до конца вегетационного периода.

Согласно критерию мутабельности, несмотря на общий депрессивный эффект химического мутагенеза, критерий оценки эффективности выявил уникальную сортовую специфику ответа на обработку у отдельных генотипов. Единственным сортом, преодолевшим физиологическую депрессию и превзошедшим контроль по массе семян с метелки, оказался сорт Жадинское. При концентрациях ДЭС 30 мМ и 50 мМ масса семян с метелки достигла 8,5 г и 8,3 г, соответственно, тогда как в контрольном варианте этот показатель составлял всего 4,1 г.

По итогам оценки 40 вариантов обработки по важнейшему качественному критерию – массе 1000 семян – были выделены наиболее перспективные генотипы, у которых данный показатель превысил контроль в среднем на 1,6 г, достигнув максимального значения 10,5 г: образец K-9703 (при концентрациях 10 мМ, 30 мМ и 50 мМ); сорт Памяти Берсиева (при концентрации 10 мМ); сорт Жадинское (при концентрациях 30 мМ и 50 мМ).

Многомерный анализ системных сдвигов (РСоА). Анализ главных компонент (РСоА) позволил обобщить реакцию растений на химическое воздействие и математически подтвердить выдвинутую гипотезу об изменениях признаков из-за влияния различных концентраций мутагена. Первые две главные компоненты суммарно объясняют 65,7% общей дисперсии признаков, при этом вклад первой компоненты (РС1) составил 49,7%, а второй (РС2) – 16,0%. В координатном пространстве РС1-РС2 зафиксирована четкая дифференциация вариантов в зависимости от дозы ДЭС и исходного генотипа. Основным вектор вариабельности ориентирован вдоль оси РС1: контрольные группы (0 мМ) локализуются преимущественно в отрицательной области РС1, в то время как варианты, подвергнутые мутагенной обработке (10, 30 и 50 мМ), направлены смещаются в положительную зону.

Наиболее удаленные координаты по оси PC1 занимают генотипы K-10215 и PI 211058 при дозе 50 мМ, что строго аргументирует их максимальное физиологическое отклонение от нормы (контроля). Вторая главная компонента (PC2) описывает вектор внутригрупповой изменчивости между сортами при идентичных дозах мутагена, дифференцируя генотипы как в положительном, так и в отрицательном диапазонах оси.

Так, при дозе 10 ммоль сорта Ильиновское, Жадинское и Саратовское 6 располагаются преимущественно в верхней части диаграммы, тогда как ряд вариантов при дозах 30–50 ммоль смещён в область отрицательных значений PC2 (Рис.2).

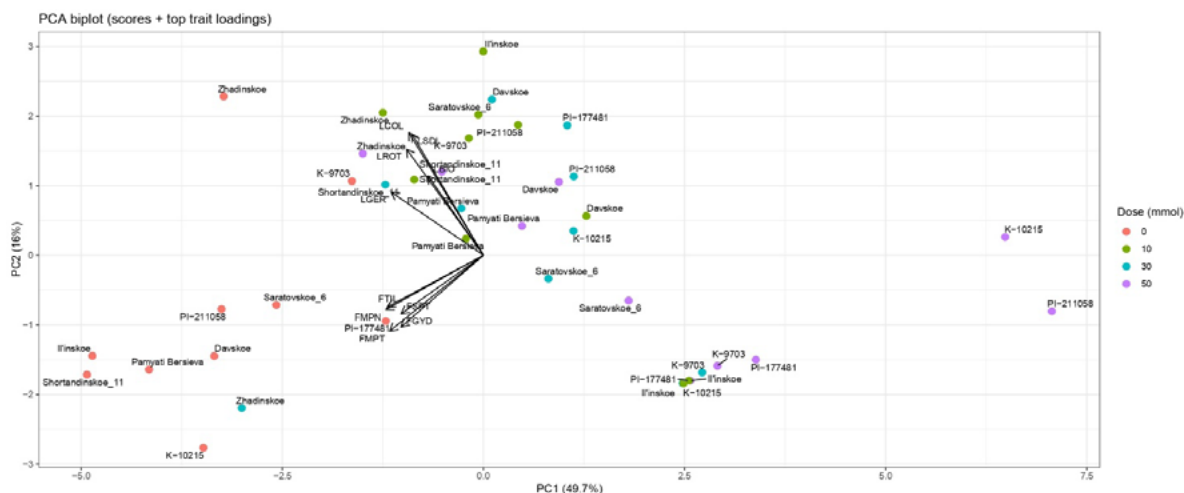


Рисунок 2. Анализ главных компонент (PCoA) изученных сортов с различными концентрациями мутагена

Анализ признаков показывает, что лабораторные морфометрические показатели раннего онтогенеза (LCOL, LSDL, LROT, LGER) ориентированы преимущественно в сторону положительных значений PC2, тогда как полевые и продуктивные признаки (FGYD, FMPN, FMPT, FTIL, LBIO, FSPT) ассоциированы главным образом с положительным направлением PC1 и отрицательным направлением PC2.

Метод частично-наименьших квадратов (PLS). Метод частично-наименьших квадратов (PLS) показал положительную связь между наблюдаемыми значениями урожайности зерна (FGYD) и значениями, предсказанными моделью при перекрёстной проверке. Точки на диаграмме располагаются вблизи линии 1:1, что указывает на удовлетворительное соответствие между наблюдаемыми и прогнозируемыми значениями (Рис. 3).

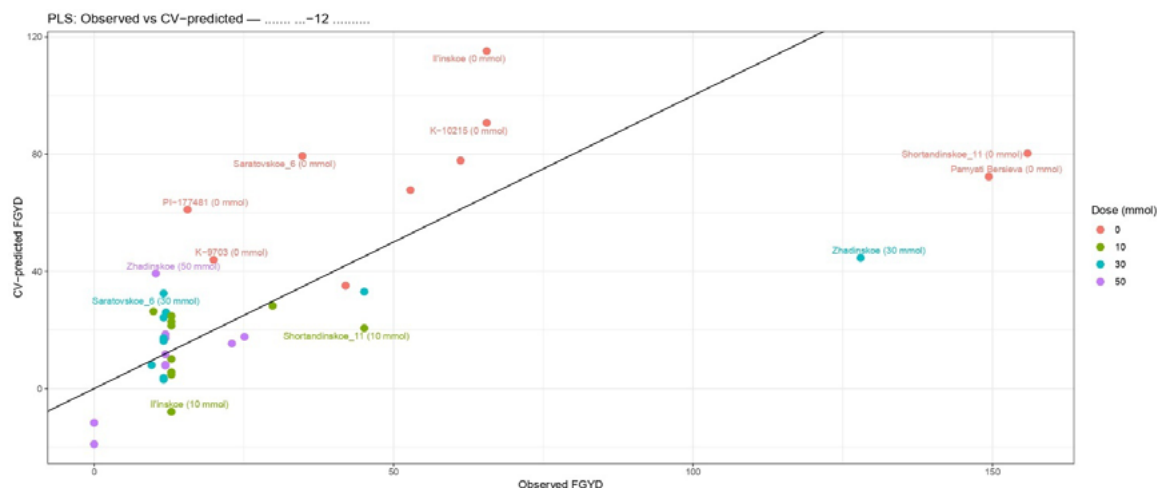


Рисунок 3. Взаимосвязь между наблюдаемыми признаками на основе анализа методом частично-наименьших квадратов (PLS)

При этом наибольшая согласованность между наблюдаемой и предсказанной урожайностью отмечается для вариантов с нулевой дозой (0 ммоль), которые формируют компактную группу в средней и верхней части графика. Варианты с повышенными дозами (10, 30 и 50 ммоль) демонстрируют большую разбросанность точек относительно линии соответствия, что отражает увеличение вариабельности отклика урожайности при усилении воздействия.

Для отдельных образцов, таких как Жадинское и Саратовское 6 при дозе 30 ммоль, наблюдаются более высокие значения предсказанной урожайности по сравнению с частью контрольных вариантов при сходных наблюдаемых значениях, тогда как некоторые варианты при дозе 50 ммоль характеризуются заниженными предсказаниями при низких наблюдаемых значениях FGYP.

Корреляционный анализ по Пирсону с поправкой на множественные сравнения (FDR, метод Бенджамини–Хохберга) выявил выраженную структуру взаимосвязей между лабораторными, морфологическими и продуктивными признаками (Рис. 4).

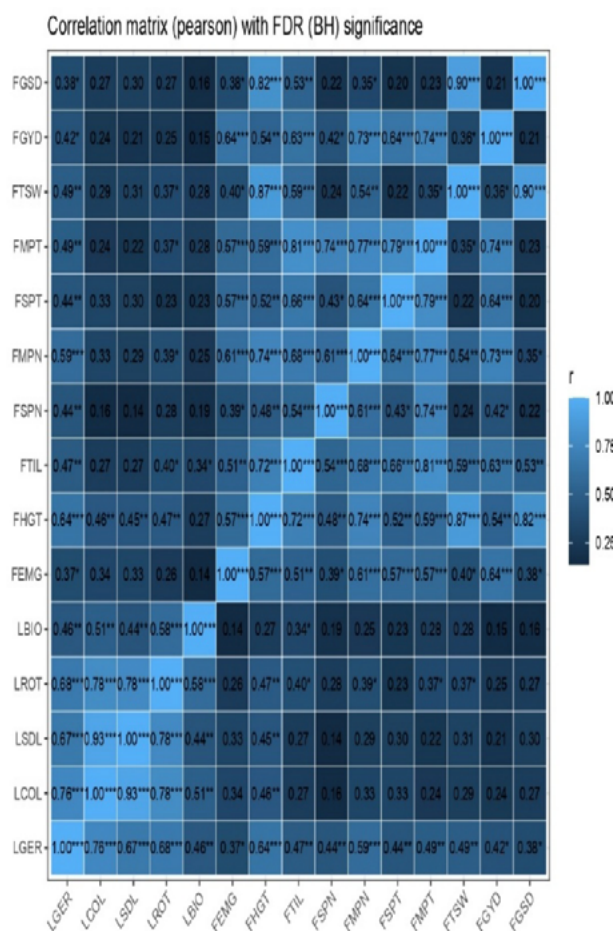


Рисунок 4. Результаты корреляционного анализа лабораторных и полевых экспериментов

Наиболее тесные положительные корреляции зафиксированы между лабораторными показателями раннего онтогенеза: длина колеоптиля (LCOL), длина проростков (LSDL), длина корешков (LROT) и лабораторная всхожесть (LGER) характеризуются высокими коэффициентами корреляции между собой ($r = 0,67–0,93$; $p < 0,001$), что указывает на их согласованное изменение и общую физиологическую основу. Лабораторная биомасса (LBIO) также положительно связана с этими показателями, однако сила корреляций несколько ниже ($r \approx 0,44–0,58$).

Полевые морфологические признаки, такие как высота растений (FHGT) и продуктивная кустистость (FTIL), демонстрируют значимые положительные корреляции как между собой ($r = 0,72$; $p < 0,001$), так и с рядом продуктивных показателей. Наиболее сильные связи отмечены между высотой растений и полевой массой тысячи семян (FTSW), а также между FTIL и поевым числом и массой семян (FMPN, FMPT), где значения r достигают $0,74–0,87$ ($p < 0,001$). Признаки, непосредственно связанные с элементами структуры урожая (FSPN, FMPN, FSPT, FMPT), образуют плотный корреляционный блок с коэффициентами r преимущественно выше $0,60$, что свидетельствует о высокой согласованности формирования урожайных компонентов.

Урожайность зерна (FGYD) показывает умеренные и высокие положительные корреляции с ключевыми полевыми и продуктивными признаками, включая FHGT, FTIL, FMPN, FSPT и FMPT ($r = 0,54-0,74$; $p < 0,001$), тогда как связи с лабораторными показателями выражены слабее и, как правило, находятся в диапазоне низких-умеренных значений ($r \approx 0,21-0,42$). Масса зерна с делянки (FGSD) тесно связана с FTSW и FHGT (r до $0,90-0,82$; $p < 0,001$), что подчёркивает вклад морфологических параметров и массы семян в формирование итоговой продуктивности.

Корреляционная сеть, построенная на основе значимых связей ($|r| \geq 0,65$; $p < 0,05$), наглядно отражает структуру наиболее тесных взаимосвязей между исследуемыми признаками и их группировку в функциональные кластеры. В сети чётко выделяются два основных модуля (Рис. 5).

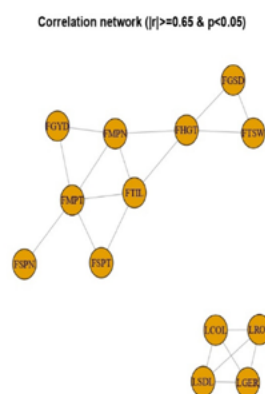


Рисунок 5. Корреляционная сеть основных изучаемых признаков

Первый модуль объединяет продуктивные и полевые морфологические признаки, формируя плотный кластер вокруг компонентов структуры урожая. В этом кластере центральное положение занимают показатели полевой массы семян с растения (FMPT) и полевой численности семян с растения (FMPN), которые связаны с урожайностью зерна (FGYD), полевой высотой растений (FHGT) и продуктивной кустистостью (FTIL). Также в данный модуль включены масса тысячи семян (FTSW) и масса зерна с делянки (FGSD), тесно связанные с высотой растений, что подчёркивает ключевую роль морфологических параметров в формировании конечной продуктивности. Наличие множественных перекрёстных связей внутри этого кластера указывает на высокую согласованность формирования элементов урожая и их совместный вклад в урожайность.

Второй модуль корреляционной сети представлен компактным кластером лабораторных показателей раннего онтогенеза, включающим лабораторную всхожесть (LGER), длину coleoptily (LCOL), длину проростков (LSDL) и длину корешков (LROT). Все признаки в этом кластере связаны между собой сильными положительными корреляциями, что отражает их синхронное изменение и общую физиологическую основу процессов прорастания и начального роста. При этом данный лабораторный кластер пространственно и функционально отделён от продуктивного блока, что указывает на ограниченное число прямых сильных связей между ранними лабораторными параметрами и показателями урожайности при заданных порогах значимости.

Обсуждение

Для выявления наиболее важных признаков, вносящих наибольший вклад в общую урожайность в конкретных условиях, был использован корреляционный анализ. Этот анализ помогает в селекции сортов, разработке агротехники и оптимизации выращивания культур для достижения максимальной продуктивности, как отмечено у ряда авторов [25-30].

Специфика действия ДЭС на количественные признаки проса проявилась не только в их угнетении, но и в локальном росте продуктивности, как было отмечено у сортов Жадинское и Давское. Данный факт возможно объяснить механизмами физиологического гормезиса, как было видно в работах Calabrese E. (2005) и компенсаторной реакцией растительного организма на сублетальный стресс. Сублетальное химическое воздействие может запускать каскад защитных реакций и активирует ростовые процессы у генетически устойчивых образцов. Дополнительным фактором может также послужить снижение плотности популяции M_1 , обеспечившее выжившие растения избыточным ресурсом для формирования биомассы [31].

Полученные нами данные о дозозависимом снижении лабораторной всхожести и полевой выживаемости проса под действием ДЭС согласуются с закономерностями химического мутагенеза злаковых культур. Так, аналогичный депрессивный эффект на ранних этапах онтогенеза проса (*Panicum miliaceum* L.) при воздействии алкилирующих агентов отмечали в своих работах Zeinullina A. et al. (2023). Нарастание токсического действия при повышении концентраций мутагена от 10 до 50 мМ объясняется ингибированием ферментативных систем и повреждением митотического аппарата клеток, что также детально описано для других мелкозерных злаков, например, сорго и могары (Rao et al., 2018; Дикарев, 2021) [32,33].

Для выявления закономерностей изменчивости морфологических, физиологических и продуктивных признаков растений, а также оценки их взаимосвязей в условиях различной дозы обработки и генотипической неоднородности был применён комплекс многомерных статистических методов. Использование анализа главных компонент (РСоА) позволило обобщить многомерные данные и выявить основные градиенты вариативности признаков, тогда как метод частично-наименьших квадратов (PLS) был использован для оценки способности совокупности признаков предсказывать урожайность зерна. Дополнительно был проведён корреляционный анализ с поправкой на множественные сравнения и построена корреляционная сеть, что обеспечило детальное представление структуры связей между лабораторными, полевыми и продуктивными показателями. Совокупное применение этих методов позволило всесторонне охарактеризовать фенотипическую организацию признаков и их роль в формировании урожайности.

Распределение векторов указывает на согласованный вклад продуктивных показателей в формирование основной оси изменчивости. В целом результаты РСоА демонстрируют выраженное смещение многомерных признаков профилей растений при увеличении концентрации обработки и подчёркивают значимую роль как генотипических различий, так и уровня воздействия в формировании структуры фенотипической вариативности.

При изучении взаимосвязи между наблюдаемыми признаками на основе анализа частично-наименьших квадратов (PLS), было установлено, что в целом распределение точек подтверждает способность PLS-модели улавливать общий тренд изменчивости урожайности зерна, однако также указывает на наличие отклонений для отдельных

комбинаций генотип × доза, особенно при высоких уровнях обработки, что проявляется в увеличении расхождений между наблюдаемыми и предсказанными значениями.

В целом корреляционная матрица демонстрирует чёткое разделение признаков на функциональные группы: лабораторные параметры раннего роста, полевые морфологические характеристики и показатели структуры урожая. При этом именно полевые и продуктивные признаки формируют наиболее сильные взаимосвязи с урожайностью, что отражает их ключевую роль в формировании конечного урожайного результата.

Корреляционный анализ и корреляционная сеть продемонстрировали модульную организацию признаков, где лабораторные показатели раннего онтогенеза формируют самостоятельный тесно связанный кластер, а полевые морфологические и продуктивные признаки образуют интегрированный блок, напрямую ассоциированный с урожайностью.

Заключение

По результатам оценки 40 вариантов обработки проса диэтилсульфатом (ДЭС) установлены наиболее эффективные концентрации мутагена, обеспечивающие максимальный селекционный эффект по элементам продуктивности. Наиболее выраженный стимулирующий эффект по показателю массы 1000 семян зафиксирован у образца К-9703 во всем диапазоне изученных концентраций (10, 30 и 50 мМ), у сорта Памяти Берсиева при минимальной дозе 10 мМ, а также у сорта Жадинское при средних и высоких дозах (30 и 50 мМ), где масса 1000 семян превысила контроль на 1,6 г.

Проведённый анализ с использованием корреляционных сетей показал наличие модульной организации признаков. Выявлено формирование изолированного кластера лабораторных показателей раннего онтогенеза (всхожесть, длина coleoptilya) и интегрированного блока полевых морфобиологических признаков, тесно связанных с финальной урожайностью зерна.

Использование химического мутагенеза позволило выделить перспективные мутантные формы проса с сокращённым на 2-4 суток периодом вегетации (у сортов Памяти Берсиева, Шортандинское 11 и образца PI 177481 при концентрациях 10-30 мМ). Выделенный скороспелый материал представляет высокую селекционную ценность для выведения адаптивных сортов проса, способных стабильно формировать урожай в лимитированных климатических условиях северных регионов Казахстана.

Вклад авторов

Э.Д. – концепция и руководство работой; А.Р. и М.А. – проведение экспериментов; Г.Е. и А.О. – обсуждение результатов исследования; А.З. и А.О. – предоставили научные консультации по вопросам применения искусственного мутагенеза и оказали методологическую поддержку при разработке экспериментального дизайна; А.О. и Н.С. – выполнили окончательную редакцию и литературное оформление рукописи.

Информация о финансировании

Данное исследование реализовано по проекту AP22785049 «Усовершенствование селекционного процесса на основе химического мутагенеза для получения скороспелых мутантных форм проса (*Panicum miliaceum* L.)» в рамках грантового финансирования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан на 2024-2026 гг.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность руководству ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А. И. Бараева» за предоставленные условия и инфраструктурную поддержку в проведении экспериментов.

Конфликт интересов

По данной статье отсутствует конфликт интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

Список литературы

1. Zhirnova I, Rysbekova A, Dyussibayeva E, et al. Pre-breeding for waxy proso millet by phenotyping and marker-assisted selection. *Chilean Journal of Agricultural Res.* 2021; 81(4):518-526. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392021000400518>
2. Zargar M, Dyussibayeva E, Orazov A, et al. Microsatellite-Based Genetic Diversity Analysis and Population Structure of Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) in Kazakhstan. *Agronomy.* 2023; 13(10): 2615. <https://doi.org/10.3390/agronomy13102615>
3. Abdelhameed A, Ali M, Darwish D, et al. Induced genetic diversity through mutagenesis in wheat gene pool and significant use of SCoT markers to underpin key agronomic traits. *BMC Plant Biology.* 2024;1-14. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05345-5>
4. Francis N, Rajasekaran R, Krishnamoorthy I, et al. Gamma irradiation to induce beneficial mutants in proso millet (*Panicum miliaceum* L.): an underutilized food crop. *Int J Radiat Biol.* 2022;98(7):1277-1288. <https://doi.org/10.1080/09553002.2022.2024292>
5. Mullainathan L, Aviya K. Mutagenic effectiveness and efficiency of EMS and DES in finger millet (*Eleusine coracana* L.). *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.* 2018; 10: 112-118. <https://doi.org/10.25081/jebt.2018.v10.3521>
6. Ravikesavan R, Ganesamurthy K, Monisha K. Studies on effect of induced mutagenesis on finger millet (*Eleusine coracana* L.). *Horticultural Biotechnology Research.* 2018; 4: 44-49. <https://doi.org/10.25081/hbr.2018.v4.3485>
7. Vanniarajan C., Souframanien J., Vetriventhan M. Effect of physical and chemical mutagenesis in little millet (*Panicum sumatrense* Roth ex Roemer & Schultes). *Plant Archives.* 2021;21(1):1120-1126. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no1.146>
8. Muthamilarasan M, Prasad M. Induced mutagenesis enhances lodging resistance and photosynthetic efficiency of kodomillet. *Agronomy.* 2020; 10: 227. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020227>
9. Bhave G, Dalvi V, Thaware L., et al. Mutagenesis in Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.). *International Journal of Science and Research.* 2016; 5(3): 1635-1638. DOI: NA
10. Mehendi S, Singh C.M, Kushwaha V.K. Estimates of genetic variability and heritability for yield and yield component traits in mungbean [*Vigna radiate* (L.) Wilczek]. *Asian Journal of Agricultural Extension, Economics & Sociology.* 2013; 8(4): 1481-1484. <https://doi.org/10.9734/AJAEES/2022/V40I1031171>
11. Johnson M., Zhang J., Schmutz J., et al. SNP discovery in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) using low-pass genome sequencing. *Plant Direct.* 2022; 6(9): e447. <https://doi.org/10.1002/pld3.447>

12. Jayasakthi P, Sathya R, Selvakumar G, Chandrasekaran P. Assessment on Genetic Diversity in Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) Mutants for Yield and Yield Parameters Raised during M₂ Generation. *Indian Journal of Agricultural Research*. 2025; 59(10): 1548. <https://doi.org/10.18805/IJAre.A-6425>
13. Habiyaremye C, Matanguihan J.B, Guedes J.D, et al. Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) and Its Potential for Cultivation in the Pacific Northwest, U.S.: A Review. *Frontiers in Plant Science*. 2017; 7: 1961. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01961>
14. Johnson M, Deshpande S, Vetriventhan M, et al. Genome-Wide Population Structure Analyses of Three Minor Millets: Kodo Millet, Little Millet, and Proso Millet. *The Plant Genome*. 2019;12(3):190021. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2019.05.0021>
15. Vetriventhan M, Upadhyaya D, Dwivedi L, et al. Genetic and Genomic Resources, and Breeding for Accelerating Improvement of Small Millets. *Plant Breeding*. 2021; 140: 1–23. <https://doi.org/10.1111/pbr.12886>
16. Liu T, Liu X, He J, et al. Identification and Fine-Mapping of a Major QTL (PH1.1) Conferring Plant Height in Broomcorn Millet (*Panicum miliaceum*). *Frontiers in Plant Science*. 2022; 13: 1010057. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1010057>
17. Wang Y, Wang J, Chen L, et al. Identification and Function Analysis of Yellow-Leaf Mutant (YX-yl) of Broomcorn Millet. *BMC Plant Biology*. 2022; 22: 463. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03843-y>
18. Poornima Jency J, Ravikesavan R. Studies on Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and EMS in Kodo Millet (*Paspalum scrobiculatum*). *International Journal of Plant & Soil Science*. 2022; 34(2): 1–10. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2022/v34i230831>
19. Liu T, He J, Dong K, et al. Genome-Wide Identification of Quantitative Trait Loci for Morpho-Agronomic and Yield-Related Traits in Foxtail Millet (*Setaria italica*) Across Multi-Environments. *Molecular Genetics and Genomics*. 2022; 297: 873–888. <https://doi.org/10.1007/s00438-022-01894-2>
20. Sood S, Joshi D, Rajashekara H, et al. Deciphering the Genomic Regions Governing Major Agronomic Traits and Blast Resistance Using Genome Wide Association Mapping in Finger Millet. *Gene*. 2023; 854: 147115. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147115>
21. Khound R, Sun G, Mural R, et al. SNP Discovery in Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) Using Low-Pass Genome Sequencing. *Plant Direct*. 2022; 6: <https://doi.org/10.1002/pld3.447>
22. Zeinullina A, Dyussibayeva E, Zargar M, et al. Agro-Morphological Traits and Molecular Diversity of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) Affected by Various Colchicine Treatments. *Agronomy*. 2023; 13: 2973. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122973>
23. Priyadharshni B, Mullainathan L, Tamizharasi G. Studies on effects of induced mutagenesis on quantitative characteristics of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) var-co3 in M₂ and M₃ generation // *International Journal of Agriculture and Environmental Research*. 2021; 07(01): 1384–1387. <https://doi.org/10.51193/IJAER.2021.7107>
24. Francis N., Ravikesavan R, Iyanar K, et al. Dose Optimization, Mutagenic Effectiveness and Efficiency of EMS in Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.). *Madras Agricultural Journal*. 2022; 109: 47–51. DOI: NA
25. Kumar J, Kumar A, Sen Gupta D, et al. Reverse Genetic Approaches for Breeding Nutrient-Rich and Climate-Resilient Cereal and Food Legume Crops. *Heredity*. 2022; 128: 473–496. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00513-5>
26. Srivastava R, Yadav O, Kaliamoorthy S, et al. Breeding Drought-Tolerant Pearl Millet Using Conventional and Genomic Approaches: Achievements and Prospects. *Frontiers in Plant Science*. 2022; 13: 781524. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.781524>

27. Rajput SG, Plyler-harveson T, Santra DK. Development and characterization of SSR markers in proso millet based on switchgrass genomics. *Am. J. Plant Sci.* 2014; 5: 175-186 <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51023>
28. Wang L, Zhang K, Liu J, et al. Genetic diversity analysis of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) germplasm resources using high-throughput sequencing. *Frontiers in Plant Science.* 2025;16:1649200. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1649200>
29. Mutanda M., Figlan S., Shargie N.G., Gwata E.T. Mutation breeding: an underutilized strategy for improving millet productivity and nutritional quality. *Frontiers in Sustainable Food Systems.* 2025;9:1679819. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1679819>
30. Rajput SG, Schnable JC, Khound R, Santra DK. Genome-wide association study reveals marker-trait associations for major agronomic traits in proso millet (*Panicum miliaceum* L.). *Planta.* 2024;259(4):92. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04351-w>
31. Calabrese EJ. Hormesis: changing view of the dose-response relationship. *Scientific American.* 2005;293(3): 66-71. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0905-92>
32. Rao MS, Kumar A. Chemical mutagenesis in small millets: phenotypic screening of M₁ and M₂ generations. *Journal of Cereal Science.* 2018;82: 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.05.006>
33. Дикарев АВ, Дикарева НС. Сравнительный анализ токсичности и мутагенности химических агентов на злаковых культурах. *Физиология растений и генетика.* 2021;53(2): 115-124. <https://doi.org/10.15407/frg2021.02.115>

Диэтилсульфат индукциясының тары өсімдіктерінің М₁ сандық сипаттамаларына әсері

Э.Н. Дюсибаева¹, А.Б. Рысбекова², М.М. Абылкаирова³,
А.Е. Зейнуллина⁴, Н.А. Сарбасова^{*5}, А.Е. Оразов⁶, Г.Т. Есенбекова⁷

^{1,2,3,4,5,7} С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті,
Астана, Қазақстан

⁶Астана халықаралық университеті, Астана, Қазақстан

Аңдатпа. Тары (*Panicum miliaceum* L.) - бұл азық-түлік және өнеркәсіптік мақсаттарда қолданылатын маңызды ауылшаруашылық дақылына жатады. Көптеген зерттеулер ДЭС (диэтилсульфат) қолданыстағы мутациялар дақылдарды жақсартудың өте пайдалы әдіс екендігі анықталды. Сонымен қатар, өсімдік селекциясында индукциялық мутацияларды мақсатты пайдалану тиімді тәсілдердің біріне айналды. Бұл мақалада мутагеннің әртүрлі концентрациясымен тұқым өңдеудің зерттеу нәтижелері көрсетілген. Бұл зерттеу зертханалық және далалық жағдайларда, ДЭС мутагенімен М₁ бірінші мутанттық ұрпақтарында мутагендік әсерін анықтау үшін жүргізілді. Өсімдіктің тәжірибелерінде келесі сандық және сапалық белгілері: өсімдіктердің биіктігі (см), танаптық өнгіштік (%), өнімді түптену, шашақтағы дәндерінің саны (дана), шашақтағы дән салмағы (г), өсімдіктегі дәндерінің саны (дана), өсімдіктегі дән салмағы (г), дән өнімділігі (г/м²), вегетациялық кезең ұзақтығы (күн) есепке алынды. Маңызды байланыстар негізінде ($r \geq 0,65$; $p < 0,05$) құрылған корреляциялық желі белгілер арасындағы тығыз өзара байланыстардың құрылымын және олардың мутагенмен өңдеуге жауап ретінде екі функционалдық модульге саралануын көрнекі түрде көрсетті. Бірінші М₁ ұрпақта ДЭС генетикалық өзгергіштікті туғызатыны анықталды. Нәтижелер зерттелген барлық белгілердегі айтарлықтай айырмашылықтарды

анықтады. Зерттеу сонымен қатар осы химиялық агентті қолдану *P. miliaceum* жетілдірілген сорттарын жасау үшін тиімді тәсіл екенін көрсетті.

Түйін сөздер: *Panicum miliaceum* L., мутагенез, диэтилсульфат, морфометриялық параметрлер, шаруашылық-құнды белгілер

Effects of Diethyl Sulfate Induction on Quantitative Characteristics of M₁ Millet Plants

E.N. Dyussibayeva¹, A.B. Rysbekova², M. M. Abylkairova³, A.E. Zeinullina⁴, N.A. Sarbassova^{*5}, A.E. Orazov⁶, G.T. Yessenbekova⁷

^{1,2,3,4,5,7} S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University

⁶ Astana International University

Abstract. Common millet (*Panicum miliaceum* L.) is an important agricultural crop used for food and industrial purposes. Numerous studies have shown that induced mutations using DES (diethyl sulfate) are a very useful method for crop improvement. Furthermore, the targeted use of induced mutations in plant breeding has become an effective approach. This article presents the results of a study of seed treatment with various mutagen concentrations. This study was conducted under laboratory and field conditions to determine the effect of DES as a mutagen on the first generation of M₁ plants. The following parameters were measured in the field experiments: plant height (cm), field germination (%), productive tillering (pcs/plant), number of seeds per panicle (pcs), grain weight per panicle (g), number of seeds per plant (pcs), grain weight per plant (g), thousand-seed weight (g), grain yield (g/m²), and growing season duration (days). The correlation network constructed on the basis of significant relationships ($r \geq 0.65$; $p < 0.05$) clearly demonstrated the structure of close interrelations between the traits and their differentiation into two functional modules in response to the mutagen treatment. DES was found to be quite effective in inducing genetic variability already in the first M₁ generation. The results revealed significant differences for all the traits studied. The study also demonstrated that the use of this chemical agent is an effective approach for developing improved *Panicum miliaceum* L. varieties.

Keywords: *P. miliaceum* L., mutagenesis, diethyl sulfate, morphometric parameters, agronomic traits

Сведения об авторах:

Дюсибаева Эльмира Наурызбековна – PhD, ассоциированный профессор, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Рысбекова Айман Бокеновна – кандидат биологических наук, профессор, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Абылкаирова Маргарита Маратовна – PhD докторант, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Зейнуллина Айым Ерболкызы – PhD, преподаватель, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Сарбасова Нұрия Әкімжанқызы – автор корреспондент, PhD докторант, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Оразов Айдын Ергалиевич – PhD, и.о. ассоциированного профессора, Международный университет Астана, пр. Кабанбай Батыра, 8, 010000, Астана, Казахстан.

Есенбекова Гүлзат Түйешиевна – PhD, и.о. ассоциированного профессора, Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, пр.Жеңіс, 62, 010000, Астана, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Дюсибаева Эльмира Наурызбекқызы – жетекші автор, PhD, қауымдастырылған профессор, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Рысбекова Айман Бөкенқызы – PhD, профессор, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Абылкаирова Маргарита Маратовна – PhD докторант, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Зейнуллина Айым Ерболқызы – PhD, оқытушы, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Сарбасова Нұрия Әкімжанқызы – хат-хабар авторы, PhD докторант, С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Оразов Айдын Ергалиұлы – PhD, қауымдастырылған профессор м.а., Астана халықаралық университеті, Кабанбай батыр даңғылы, 8, 010000, Астана, Қазақстан.

Есенбекова Гүлзат Түйешіқызы – PhD, қауымдастырылған профессор м.а., С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, Жеңіс даңғылы, 62, 010000, Астана, Қазақстан.

Authors' information:

Dyussibayeva Elmira Nauryzbekovna – lead author, PhD, Associate Professor, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, Zhenis Ave. 62, 010000, Astana, Kazakhstan.

Rysbekova Aiman Bokenovna – Candidate of Biological Sciences, Professor, S.Seifullin Kazakh Research Agrotechnical Research University, Zhenis Ave. 62, 010000, Astana, Kazakhstan.

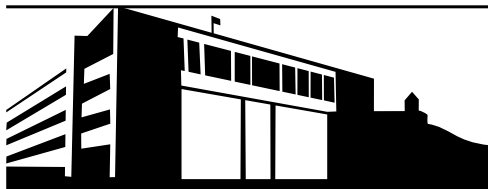
Abylkairova Margarita Maratovna – PhD student, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, Zhenis Ave., 62, 010000, Astana, Kazakhstan.

Zeynullina Aiym Erbolkyzy – PhD, Lecturer, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, Zhenis Ave. 62, 010000, Astana, Kazakhstan.

Sarbassova Nuriya Akimzhankyzy – Corresponding Author, PhD student, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, Zhenis Ave., 62, 010000, Astana, Kazakhstan.

Orazov Aydin Ergalievich – PhD, Acting Associate Professor, Astana International University, Kabanbay Batyr Ave., 8, 010000, Astana, Kazakhstan.

Yessenbekova Gulzat Tuyeshiyevna – PhD, Acting Associate Professor, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University, Zhenis Ave., 62, 010000, Astana, Kazakhstan.



ХҒТАР 34.15

Ғылыми мақала

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-111-133>

Қазақстанда кездесетін эндемик Кауфман қызғалдағының (*Tulipa kaufmanniana*) хлоропласт геномына құрылымдық талдау

Д.Түсіпқан¹, В.А.Шевцов², М.Б.Рамазанова³, А.Өркен⁴,
А.Б.Шевцов⁵, Ш.А.Манабаева^{*6}

^{1,2,3,4,5,6} Ұлттық биотехнология орталығы, Астана, Қазақстан

⁴Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық университеті

E-mail: ¹tdilnur@mail.ru, ²xatabadich@gmail.com, ³malikaramazan.7@gmail.com,
⁴orkena23@gmail.com, ⁵ncbscevtsov@gmail.com, ^{*6}manabayeva@biocenter.kz

Аңдатпа. Кауфман қызғалдағы (*Tulipa kaufmanniana*) Қазақстанға эндемик болып табылатын, сәндік мақсатта кеңінен қолданылатын маңызды өсімдік түрі. Бұл зерттеуде Illumina секвенирлеу технологиясын пайдалана отырып, сирек кездесетін осы түрдің толық хлоропласт геномы алғаш рет сипатталды. Зерттеу нәтижесінде *T. kaufmanniana* толық геномы жоғары деңгейде сақталғаны анықталды. Геном мөлшері 152 374 ж.н., оның құрамына 26 371 ж.н. болатын екі инверттелген қайталану (ИҚ) аймағы, 82 369 ж.н. құрайтын ұзын бір көшірмелі (ҰБС) аймақ және 17 260 ж.н. тұратын қысқа бір көшірмелі (ҚБС) аймақ кірді. Жалпы ГЦ мөлшері 36,58% құрады. Геномда 130 ген аннотацияланды. Олардың 85-і ақуызды кодтайды, 38-і тРНҚ-ны, ал 8-і рРНҚ-ны кодтайды. Қарапайым тізбекті қайталануларды (ҚТҚ) талдау барысында *T. kaufmanniana* геномында 158 ҚТҚ локусы табылды. Олар негізінен ҰБС аймағында (63,3%), ҚБС аймағында (19%) және ИҚ аймағында (17,7%) шоғырланған. ҚТҚ-лардың бес санаты (моно-, ди-, три-, тетра-, гексануклеотид) тіркелді. Ең полиморфты ақуыз-кодтайтын гендер ретінде *uscf1*, *matK*, *proC2*, *rbcl*, *ndhF*, *semA*, *rpl22*, *gps3* және *psbH* анықталды. Олар жоғары тізбектік әртүрлілікке (ТӘ 2,570–6,085) және нуклеотидтік әртүрлілікке ие болды. Салыстырмалы синонимдік кодондарды пайдалану (ССКП) талдауы артық қолданылатын және сирек қолданылатын кодондарды анықтады. Жалпы алғанда, Кауфман қызғалдағының хлоропласт геномын зерттеу Қазақстан эндемигі болып табылатын осы сирек түрдің генетикалық ресурстарын сақтау, сондай-ақ оның эволюциялық және филогенетикалық ерекшеліктерін тереңірек түсіну үшін маңызды. Бұл мәліметтер Қазақстан флорасының биологиялық

Түсті: 6.01.2026. Қабылданды: 23.06.2026. Онлайн қол жетімді: 30.06.2026.

*Хат-хабар авторы

әртүрлілігін қорғауға және молекулалық деңгейде тиімді сақтау стратегияларын жасауға негіз бола алады.

Түйін сөздер: Кауфман қызғалдағы (*Tulipa kaufmanniana*), хлоропласт геномы, қарапайым тізбекті қайталанулар (ҚТҚ), түйісу нүктесі, кодонды пайдалану үлгілері, полиморфты КДТ гендер

Кіріспе

Кауфман қызғалдағы (*Tulipa kaufmanniana*) – лалагүлдер тұқымдасының қызғалдақ туысына жататын көп жылдық пиязшықты өсімдік (сурет 1) [1]. Қазақстанда Қаратаудың, Талас Алатауының, Өгем жотасы мен Қоржынтаудың тастақты жерлерінде, таулы және субальпі белдеулеріндегі тау жылғаларының жағалауларында өседі [2]. Алғаш рет ресейлік ботаник Эдуард Август фон Регель 1877 жылы қазіргі Өзбекстан аумағындағы Шыршық өзені аңғарынан жиналған үлгілер негізінде сипаттаған [3]. Түр атауы Түркістан өлкесінің генерал-губернаторы Константин фон Кауфманның құрметіне берілген [4].

T. kaufmanniana пиязшығы жұмыртқа немесе сопақша пішінді, жуандығы 1,5–4 см, сыртқы қабыршақтары қара немесе алтын-қоңыр түсті, былғары тәрізді, ішкі жағы түкті. Сабақтарының биіктігі 10–50 см, жиі антоцианды реңкке ие [5]. Жапырақтары әдетте 2–3, көгілдір-сұр түсті, ұзынша немесе эллипс тәрізді, ені 2–13 см [6].

Гүлі дара, пішіні кең қоңырау немесе бокал тәрізді, күн сәулесінде толық ашылады. Гүл серігі 6 жапырақшадан тұрады, ұзындығы 2,5–8 см. Ішкі жағы ақ, түбінде сары дағы бар, ал сыртқы беті көбіне қызыл, күлгін немесе қызғылт түсті; сирек сары немесе кілегей реңктері де кездеседі [7]. Аталықтары гүл серігінен қысқа, жіпшелері сары, тозаңдықтары сызықты. Гүлдері жиі хош иісті. Тұқым қорапшасы ұзынша, ұзындығы 3–6 см [8]. Гүлдеу кезеңі наурыздың соңынан шілденің басына дейін созылады (көбіне сәуір–маусым). Негізінен тұқым арқылы көбейеді [9].



Сурет 1. *T. kaufmanniana* Regel (Ақсу-Жабағылы мемлекеттік табиғи қорығында)

Қазақстанда 500–2500 м биіктікте таралған, орманды-дала және субальпі шалғын қауымдастықтарында, Батыс Тянь-Шань мен оған іргелес жоталардың ашық орман шеттерінде кездеседі [10] (сурет 1). Түр бағбандықта жоғары бағаланады: ерте көктемде ірі, сәндік гүлдері ашылып, селекцияда маңызды рөл атқарып, 200-ден астам сорты шығарылған [11].

Табиғатта сирек кездесетін бұл түр Халықаралық табиғат қорғау одағының Қызыл тізімінде «жойылып кету қаупі төніп тұрған» (Near Threatened) санатына енгізілген [12], ал Қазақстанның Қызыл кітабында сирек түр (III санат) ретінде тіркелген [13]. Қазақстан аумағындағы шамамен 18 жабайы қызғалдақ таксондарының бірі [14]. Кейбір қорықтарда (мысалы, Шатқал биосфералық қорығында) таралғанымен, мекен ету ортасының бұзылуы мен шамадан тыс жиналуына байланысты қорғау және тұрақты мониторинг жүргізу қажет.

Tulipa туысы лалагүлдер тұқымдасына (Liliaceae) жатады, ол шамамен 15 туыспен 600-ге жуық түрді қамтиды [15]. Liliaceae тұқымдасы ішінде қызғалдақтар Lilioideae кіші тұқымдасына және Liliaeae трибасына (*Lilium*, *Fritillaria* және т.б.) жатқызылады [15–16]. Қазіргі классификацияларда *Tulipa* туысының төрт кіші туысы (*Clusianae*, *Tulipa*, *Eriostemon* және *Orithyia*) ажыратылады [17], ал жалпы түр саны 75–100 аралығында деп есептеледі [17–18].

Қызғалдақтар қоңыржай Еуразия мен Солтүстік Африкаға тән. *Tulipa* туысының жабайы түрлері далалардан бастап альпілік шалғындарға дейін әртүрлі экожүйелерде таралғанымен, олардың негізгі әртүрлілік орталығы – Орталық Азия. Генетикалық және биогеографиялық зерттеулер жабайы қызғалдақтардың шамамен 20–23 млн жыл бұрын Орталық Азия аумағында (Оңтүстік Қазақстан және оған іргелес өңірлер) қалыптасқанын көрсетеді [19]. Қазіргі кезде жабайы *Tulipa* түрлерінің жартысынан астамы осы өңірде шоғырланған [19–20]. Қазақстан аумағында белгілі 100–120 жабайы қызғалдақ түрінің шамамен 40-қа жуығы өседі [21]. Бірқатар түрлер, соның ішінде *T. greigii*, *T. kaufmanniana* және *T. schrenkii*, осы аймаққа эндемик болып табылады.

Хлоропласттар – өсімдіктер мен балдырларда фотосинтезді жүзеге асыратын қос мембраналы органоидтар [22]. Олар өздерінің хпДНҚ-сын (хпДНҚ) қамтиды, әдетте 115–180 кб өлшемді сақина тәрізді молекула [23]. Геном әдетте төрт бөліктен тұрады: екі инверторлық қайталану (ИК) және ұзын (ҰБС 80–90 кб) және қысқа (ҚБС 15–27 кб) бір сатылы аймақтар [23–24]. Бұл геном шамамен 120–130 генді кодтайды, оның ішінде фотосинтез ақуыздары, рРНҚ және тРНҚ-лар [24]. Ядролық ДНҚ-мен салыстырғанда, хпДНҚ шағын, гаплоидты және жақсы сақталған, әрі әр жасушада көп данамен кездеседі [22]. Шағын көлемі мен көп көшірме санының арқасында хлоропласт геномын жоғары өнімді әдістермен тез әрі арзан секвенирлеуге болады, бұл көптеген түрлер үшін толық пластома жинақтауға мүмкіндік береді.

Көптеген жабайы гүлді өсімдіктерде пластома шамамен 80 ақуыз-кодтайтын ген, ~30 тРНҚ және 4 рРНҚ кодтайды (кейбір гендер ИҚ аймақтарында қайталанады). Хлоропласт геномы гаплоидты және әдетте аналық арқылы беріледі [25]. Төмен мутация жылдамдығы мен тұрақты ұйымдасуы оны филогенетикалық және генетикалық зерттеулер үшін қолайлы етеді. Гаплоидты, рекомбинацияланбайтын және көп даналы сипаттары хпДНҚ-ны ядролық ДНҚ-ға қарағанда тиімді генетикалық маркер етеді.

Жалпы тұрақтылығына қарамастан, пластомалар өзгерістер көрсетеді. Тізбектік айырмашылықтар көбінесе кодталмайтын аймақтарда (генаралық аралықтар, интрондар) шоғырланады, ал кодтайтын аймақтар анағұрлым тұрақты болады [25]. Мысалы, туыс түрлерді салыстырғанда бірегей көшірме және кодталмайтын аймақтарда нуклеотидтік

әртүрлілік (π) жоғары, көбірек инсерциялар/делециялар байқалады, ал ИҚ немесе код-тайтын аймақтарда айырмашылықтар аз [26].

Эволюциялық уақыт ішінде пластомалар құрылымдық өзгерістерге ұшыраған. Кейбір өсімдік тармақтары бір ИҚ-ын жоғалтқан немесе ИҚ шекарасының кеңеюі/қысқаруын бастан кешкен [26–27]. Сондай-ақ ірі инверсиялар мен гендердің қайта орналасуы, ген/интрондардың жоғалуы және псевдогендердің пайда болуы орын алады [27–28]. Микроқұрылымдық өзгерістер, атап айтқанда қарапайым тізбекті қайталанулар (ҚТҚ), бір нуклеотидті полиморфизмдер (БНП) және indel-дер, пайдалы эволюциялық маркерлер болып табылады.

Хлоропласт геномы тұрақты әрі ақпараттық табиғатының арқасында эволюциялық және филогенетикалық зерттеулерде кеңінен қолданылады [29]. Толық пластома деректері күрделі тармақтардағы филогенетикалық байланыстарды шешуге, түрлерді, популяцияларды немесе культиварларды анықтауға мүмкіндік береді. Жоғары өзгергіш аймақтар (мысалы, *ucf1* немесе *gpl32-trnL*) ДНҚ штрихкодтары ретінде қолданылады.

Хлоропласт геномдары популяциялық генетика мен филогеография үшін бейтарап маркерлер (ҚТҚ, indel) ұсынады [30–33]. Толық пластомалар өсімдіктердің филогениясын, биогеографиялық тарихын қалпына келтіруге, сондай-ақ соттық немесе археологиялық өсімдік сәйкестендіруді жүзеге асыруға мүмкіндік береді.

Систематикадан тыс, хлоропласт геномикасы биотехнологияны қолдайды. Гаплоидты, көп даналы табиғаты оны генетикалық инженерияға (пластидтік трансформацияға) қолайлы етеді, тұрақты белгілерді экспрессиялау үшін. Пластомаға бөгде гендерді енгізу арқылы вакцина өндірісі немесе метаболикалық инженерия жүзеге асырылады [34–37].

Зерттеу материалдары мен әдістері

Ботаниктердің көмегімен *Tulipa kaufmanniana* үлгілері (42°20'51" с.е., 70°28'9" ш.б.) 2022 жылғы мамырда Ақсу-Жабағылы мемлекеттік табиғи қорығының жинау алаңдарынан жиналды. Жинауға Қазақстан Республикасы Экология, геология және табиғи ресурстар министрлігінің Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитетінің рұқсаты берілді (1-кесте).

ДНҚ бөлінгенге дейін жас жапырақтар -80 °C-де сақталды. ДНҚ Shi және әріптестері (2012) әдісі бойынша бөлінді [38]. Біртектілігі, тазалығы және бүтіндігі 1% агарозды гельде 30 минут 120 В кернеуде электрофорез арқылы тексерілді. Концентрациясы Thermo Fisher Scientific NanoDrop™ 2000/2000с спектрофотометрімен анықталды. ДНҚ кітапханасы Illumina® DNA Prep (M) Tagmentation Kit (96 үлгі) көмегімен дайындалып, MiSeq секвенаторында MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) арқылы секвенирленді. Барлық реагенттер мен әдістер өндіруші нұсқаулығына сәйкес қолданылды.

Бастапқы деректер Geneious Prime 2024.0.4 бағдарламасында өңделді (<https://www.geneious.com>). Геном аннотациясы *T. altaica* (NC_044780.1) хлоропластын эталон ретінде пайдаланып, GeSeq арқылы жүргізілді [39], қателер қолмен түзетілді. Толық хлоропласт геном карталары Chloe бағдарламасында жасалып, InkScape-та өңделді [40]. Соңында *T. kaufmanniana* толық хлоропласт геномы NCBI Nucleotide-қа жіберілді.

Қосымша талдау үшін толық хлоропласт тізбектер BioEdit 7.7 бағдарламасында тураланды [41]. Салыстырмалы синонимді кодон қолданылуы (ССКП) мәндері мен кодон қолдану жиілігі MEGA 11 арқылы есептелді [42–43]. Ген құрылымдарының позициялық байланыстары мен тоғыс аймақтары IRscope веб-қосымшасында визуализацияланды [44]. ҚТҚ Krait V1.5.1 арқылы анықталды [33], мотивтері ұзындығына қарай 10 топқа

бөлінді [45]. Кодтаушы ДНҚ тізбектері мен интрондардағы ҚТҚ-на бай гендер нуклеотидтік әртүрліліктің «ыстық нүктелерін» анықтау үшін зерттелді, Pi индексі DnaSP v5.10 бағдарламасы арқылы есептелді [46].

Кесте 1

T. kaufmanniana түрінің шыққан тегі туралы толық мәліметтері мен геномдық ерекшеліктері

Ақпарат және геном сипаттамасы	<i>T. kaufmanniana</i>
GenBank тіркеу номері	PP329299
Координата	42°20'51" с.е., 70°28'9" ш.б.
Биіктік (м)	2050
Дереккөз	Ақсу-Жабағылы мемлекеттік табиғи қорығы
Жиналған уақыты	14.05.2021
Геном өлшемі (bp)	152,374
ҚБС (bp)	17,260 (1–17,260)
ИҚА (bp)	26,371 (17,261–43,632)
ҰБС (bp)	82,369 (43,633–126,002)
ИҚВ (bp)	26,371 (126,003–152,374)
Жалпы гендер саны	131
Белок кодтайтын гендер	85
тРНҚ	38
рРНҚ	8
А үлесі (%)	32,1
Т үлесі (%)	31,33
Ц үлесі (%)	17,96
Г үлесі (%)	18,62
ГЦ жалпы үлесі (%)	36,58
ҚБС аймағындағы ГЦ үлесі (%)	29,85
ИҚ аймағындағы ГЦ үлесі (%)	42,01
ҰБС аймағындағы ГЦ үлесі (%)	34,49

150 жұп негізден асатын әрбір кодтаушы ДНҚ тізбектері (КДТ) және интергендік аймақтарды талдау үшін NCBI GenBank ядролық BLAST бағдарламасы қолданылды (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Параметрлер: сәйкестік деңгейі 99–100%, сұраныс қамтылуы 99–100%, қажет болған жағдайда *Tulipa* (taxid:13305) таксонына шектелді. Әрбір интергендік аймақ пен КДТ тізбектік әртүрлілігі (ТӘ) DnaSP v5.10.1 арқылы есептелді. Әр тізбек үшін нуклеотидтік әртүрлілік (Pi), сақталған нуклеотидтер саны, мутациялар саны және indel-оқиғалар анықталды [47]. ТӘ келесі формула бойынша есептелді [48]:

$$ТӘ = \frac{(\text{нуклеотидтік мутациялар саны} + \text{indel оқиғалары саны})}{(\text{сақталған аймақтар саны} + \text{нуклеотидтік мутациялар саны} + \text{indel оқиғалары саны})} \times 100\%.$$

Tulipa kaufmanniana толық хлоропласт геном тізбектері және NCBI дерекқорында жарияланған басқа *Tulipa* түрлерінің толық пластомалары филогенетикалық байланыстарды анықтау үшін қолданылды. SNP-тер *T. altaica* (NC_044780) референстік геномына сәйкестендірілген оқылымдарды салыстыру арқылы BioNumerics бағдарламасында анықталды. Филогенетикалық ағаш MEGA 11 бағдарламасында Максималды ықтималдық (Maximum Likelihood) әдісі мен Kimura-ның екі параметрлі моделі бойынша тұрғызылды. Bootstrap сенімділік деңгейін бағалау үшін 500 қайталау жүргізілді. *Smilax china* толық хлоропласт геномы (NM_536959) сыртқы топ (outgroup) ретінде қолданылды.

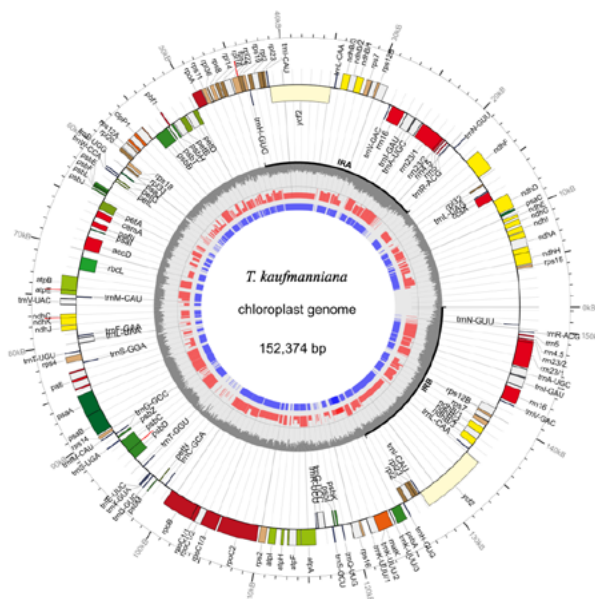
Жұмыс барысында келесі қысқартулар пайдаланылды:

БНП	– бір нуклеотидті полиморфизм	SNP	– single nucleotide polymorphism
ИҚ	– инверттелген қайталанулар	IR	– inverted repeat
ж.н.	– жұп нуклеотид	bp	– base pair
ҚБС	– қысқа бір сатылы аймақ	SSC	– small single copy region
КДТ	– кодтаушы ДНҚ тізбегі	CDS	– coding DNA sequence
ҚТҚ	– қарапайым тізбекті қайталанулар	SSR	– simple sequence repeat
ССКП	– салыстырмалы синонимдік кодондарды пайдалану	RSCU	– relative synonymous codon usage
ТӘ	– тізбектік әртүрлілік	SV	– structural variation
ҰБС	– ұзын бір сатылы аймақ	LSC	– large single copy region
ХТҚО	– халықаралық табиғат қорғау одағы	IUCN	– international union for conservation of nature

Нәтижелер

Кауфман қызғалдағының хлоропласт геномның жалпы ұзындығы 152 374 ж.н. құрады. Оның құрылымы ұзындығы 26 371 ж.н. болатын ИҚ аймақтарынан, 17 260 ж.н. ҚБС аймақтан және 82 369 ж.н. тұратын ҰБС аймақтан құралды (кесте 1) (сурет 2). Жалпы ГЦ мөлшері 36,58%. ҚБС аймақта ГЦ мөлшері 29,85%, ҰБС аймақта 34,49%, ИҚ аймақтарында ең жоғары ГЦ құрамы 42,01%. Геномдық аннотация бойынша 130 функционалды ген анықталды, оның ішінде 84 ақуыз кодтайтын, 38 тРНҚ және 8 рРНҚ гені бар (кесте 1).

Сонымен қатар, ИҚ аймақтарында орналасқан 18 қайталанатын ген тіркелді. Оларға алты ақуыз кодтайтын гендер (*ndhB*, *rpl2*, *rpl23*, *rps7*, *rps12B* және *usc2*), төрт рРНҚ гендері (*rrn4.5*, *rrn5*, *rrn16*, *rrn23*) және сегіз тРНҚ гендері (*trnA*-UGC, *trnH*-GUG, *trnI*-CAU, *trnI*-GAU, *trnL*-CAA, *trnN*-GUU, *trnR*-ACG және *trnV*-GAC) жатады. Бұл геномда *usc1* және *usc2* гендері сақталған, ал *usc15* және *usc68* псевдогендер ретінде анықталды (кесте 2). Сондай-ақ, 28 геннің интрон ұзындықтары тұрақты түрде сақталғаны байқалды. *matK* гені *trnK* генінің интронында орналасқан (кесте 3). *T. kaufmanniana* геномының толық тізбегі NCBI деректер қорына енгізілген (PP329299).



Сурет 2. *T. kaufmanniana* хлоропласт геномының картасы

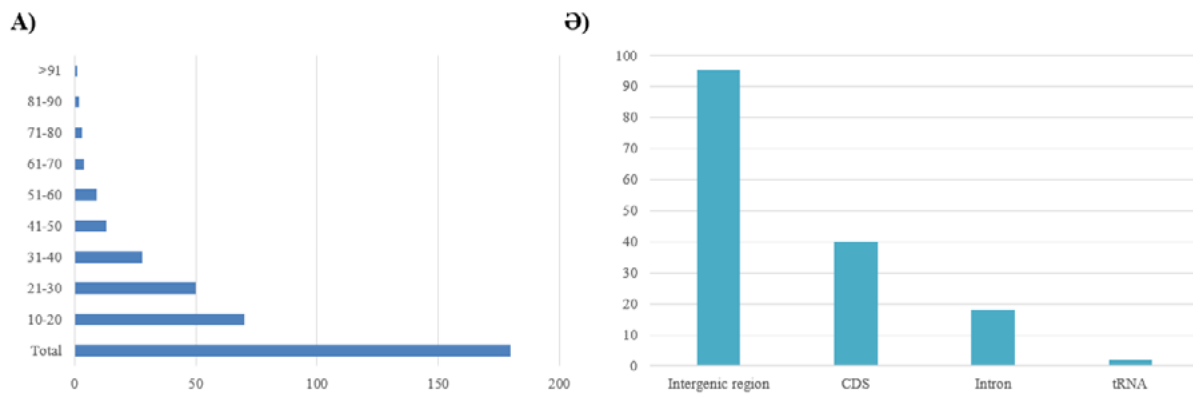
Кесте 3

T. kaufmanniana толық хлоропласт геномдарындағы гендердің тізімі

Өзін-өзі көшіру						
Транспорттық РНҚ (тРНҚ)		Рибосомалық РНҚ (рРНҚ)		РНҚ полимераза	Рибосомалық ақуыздың кіші субъединицасы (SSU)	Рибосомалық ақуыздың үлкен суббірлігі (LSU)
<i>trnA-UGC, trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnF-GAA, trnM-CAU, trnG-GCC, trnG-UCC, trnH-GUG*, trnI-CAU*, trnI-GAU*, trnK-UUU, trnL-CAA*, trnL-UAA, trnL-UAG, trnM-CAU, trnN-GUU*, trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-ACG*, trnR-UCU, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC*, trnV-UAC, trnW-CCA, trnY-GUA</i>		<i>rrn4.5*, rrn5*, rrn16*, rrn23*</i>		<i>rpoA, rpoB, rpoC1, rpoC2</i>	<i>rps2, rps3, rps4, rps7*, rps8, rps11, rps12A, rps12B*, rps14, rps15, rps16, rps18, rps19</i>	<i>rpl2*, rpl14, rpl16, rpl20, rpl22, rpl23*, rpl32, rpl33, rpl36</i>
Фотосинтез гендері						
НАДН-дегидрогеназа суббірліктері	Фотожүйе I суббірліктері	Фотожүйе II суббірліктері	Фотожүйе I жинақтау факторы	Цитохром b/f кешенінің суббірліктері	АТФ-синтаза суббірліктері	Rubisco үлкен суббірліктері
<i>ndhA, ndhB*, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>	<i>psaA, psaB, psaC, psaI, psaJ</i>	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbT, psbZ</i>	<i>pafl (бұрынғы ycf3), paflI (бұрынғы ycf4)</i>	<i>petA, petB, petD, petG, petL, petN</i>	<i>atpA, atpB, atpE, atpF, atpH, atpI</i>	<i>rbcl</i>
Басқа гендер						
Протеаза	Матураза	Ацетил-КоА-карбоксилаза суббірлігі		Мембрана қабықшасының ақуызы		С-типті цитохром синтезі гені
<i>clpP1</i>	<i>matK</i>	<i>accD</i>		<i>cemA</i>		<i>ccsA</i>
Белгісіз функциялы гендер мен псевдогендер						
Гипотетикалық хлоропласттық оқу рамалары						
<i>ycf1</i> және <i>ycf2</i> , ал <i>ycf15</i> және <i>ycf68</i> псевдогендер болып шықты.						

Кауфман қызғалдағының хлоропласт геномында екі түрлі мономер, алты түрлі динуклеотид және он сегіз түрлі тринуклеотидті қоса алғанда, барлығы жиырма ҚТҚ түрі анықталды. ҚТҚ мотивтерінің ішінде ең жиі кездесетіндері Т және А нуклеотидтері болып, тиісінше барлық қайталанулардың 36,08%-ын құрады. Динуклеотидті ҚТҚ-лардың негізгі түрлері АТ және ТА болса, олардан кейін ТЦ, ЦТ, ГА және АГ типтері орын алды. Тринуклеотидті мотивтердің ішінде ең көп ААТ, ТАА, ТТА, ТАТ, ТТЦ, ГТТ, ГАА, ЦТТ, АТТ, АТА, ТСА, АГА, ААГ, ТГА, ГГТ, АТГ, АЦЦ және ААЦ таралғандары.

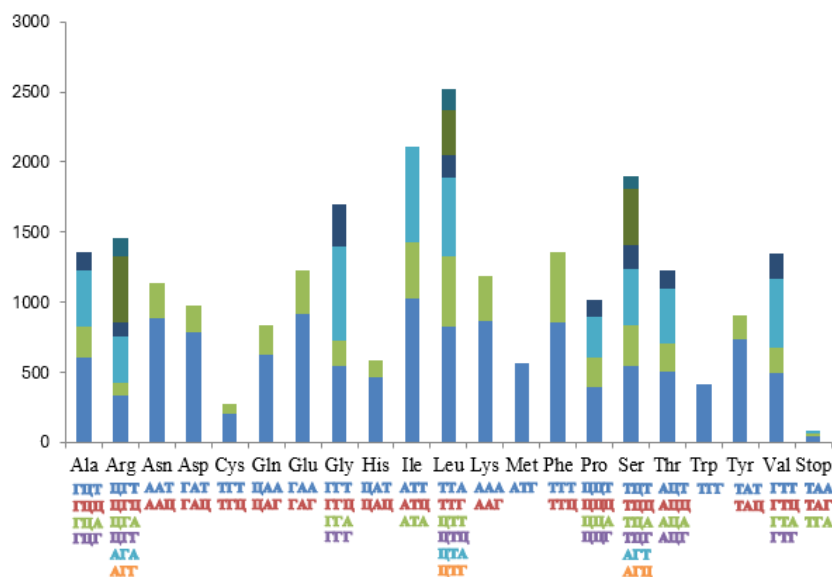
Сонымен қатар, геномда сирек кездесетін Ц типті мономерлер, ТГЦ типті триплет мотивтер, сондай-ақ ТТАТ және ТТТА тәрізді тетрануклеотидті қайталанулар анықталды. Бұдан бөлек, ТЦТ және ЦАА типті триплет мотивтер де табылды. Тетрануклеотидті ҚТҚ-лардың ішінде ААТА, ААТТ, ЦАТТ, ТЦТА және ТТЦТ тәрізді қайталанулар кездеседі. Геномда барлығы екі түрлі гексануклеотидті қайталану байқалды, олар ТТТГТТ және АААЦАА болып табылады. Геномның генаралық аймақтарында ҚТҚ тығыздығы ең жоғары болды, ол 84-тен 102-ге дейін ауытқыды, одан кейін КДТ (38–64), интрондар (16–22) және тРНҚ (1–3) аймақтары орналасты. *T. kaufmanniana*-де интрондық ҚТҚ ең көп анықталды (сурет 4).



Сурет 4. *T. kaufmanniana* геномының әртүрлі аймақтарындағы ҚТҚ қайталану ұзындығы мен таралуы.

10 КДТ генінде айқын полиморфты ҚТҚ-лар бар екенін анықталды, олардың ТӘ мәндері 2,581- 6,102 аралығында, ал Рі мәндері 0,004 - 0,010 шегінде болды. Бұл гендерге *rpoC2*, *cemA*, *rbcL*, *rpl36*, *psbH*, *rps3*, *rpl22*, *ndhF*, *ycf1* және *matK* жатады (сурет 5).

Сонымен қатар, ұзындығы 150 ж.н.-тен асатын интергендік аймақтар ішінде жоғары деңгейдегі ТӘ мәндері 4,848–11,862 және Рі мәндері 0,01599–0,01839 көрсеткен 21 аймақ анықталды. Оларға *ndhF_rpl32*, *trnR-UCU_trnG-UCC*, *trnY-GUA_trnD-GUC*, *trnT-GGU_trnE-UUC*, *rpoA_petD*, *rps15_ycf1*, *psbI_psbK*, *trnF-GAA_trnL-UAA*, *psbB_clpP1*, *trnM-CAU_trnG-GCC*, *ndhE-ndhG*, *psaJ_trnP-UGG*, *rps8_rpl36*, *psaI_psaI*, *rpl14_rps8*, *ndhG-ndhI*, *trnQ-UUG_rps16*, *cemA_psaI*, *petL_psbE*, *rpl32_trnI-UAG*, және *rpl33_psaJ* кіреді.



Сурет 5. КДТ құрамындағы 20 аминқышқылы мен стоп-кодндардың кодон құрамы

Кауфман қызғалдағының хлоропласт геномында кодндардың жалпы саны *Tulipa* түрлерінің диапазонында болды. Кодндардың үшінші позициясындағы нуклеотидтер ішінде ең жиі кездескені Т (36,07%), одан кейін А (31,07%), Г (17,02%) және Ц (15,85%) болды.

Жалпы саны 21 жоғары жиілікті кодон (ССКП > 1) анықталды. Атап айтқанда, екі кодон (ГЦТ және ЦТТ), АЦТ кодоны (ССКП > 1) кездесті. Сонымен қатар, *T. kaufmanniana* геномында ТТА, ГЦА, ГЦТ, ГГТ және АГТ қатарлы бес жоғары жиілікті кодон табылды.

ССКП > 1,6 мәнімен сипатталған артық пайдаланылған кодндар арасында жеті кодон (ТТА, АГА, ГЦТ, ТЦТ, ТАТ, АЦТ және ГАТ) Кауфман қызғалдағының геномында анықталды. Сонымен қатар, 24 аз пайдаланылған кодон (ССКП < 0.6) тіркелді, олардың қатарына ААЦ, ААГ, АЦГ, АГЦ, АГГ, АТЦ, ЦАЦ, ЦАГ, ЦЦГ, ЦГЦ, ЦГГ, ЦТЦ, ЦТГ, ГАЦ, ГАЦ, ГЦГ, ГГЦ, ГТЦ, ГТГ, ТАЦ, ТЦГ және ТГЦ жатады. Ақуыз деңгейінде *T. kaufmanniana*-да ең көп таралған аминқышқыл лейцин (орташа жиілігі 11,51%), ал ең аз кездескені цистеин (орташа жиілігі 1,38%) болды.

Кесте 4

**T. kaufmanniana геномындағы 20 аминқышқылының кодондық
құрамының саны мен ССКП мәні**

АҚ	Аланин				Асапарагин		Аргинин						Лизин	
Кодон	ГЦТ	ГЦЦ	ГЦА	ГЦГ	ААТ	ААЦ	ЦГТ	ЦГЦ	ЦГА	ЦГГ	АГА	АГГ	ААА	ААГ
Саны	612	212	408	129	890	249	339	89	326	106	466	130	864	322
ССКП	1,8	0,62	1,2	0,38	1,56	0,44	1,4	0,37	1,34	0,44	1,92	0,54	1,46	0,54
АҚ	Глицин				Аспарагин қышқылы		Лейцин						Глутамин қышқылы	
Кодон	ГГТ	ГГЦ	ГГА	ГГГ	ГАТ	ГАЦ	ТТА	ТТГ	ЦТТ	ЦТЦ	ЦТА	ЦТГ	ГАА	ГАГ
Саны	547	185	668	298	792	185	832	493	561	159	329	148	917	315
ССКП	1,29	0,44	1,57	0,7	1,62	0,38	1,98	1,17	1,33	0,38	0,78	0,35	1,49	0,51
АҚ	Валин				Фенилаланин		Серин						Цистеин	
Кодон	ГТТ	ГТЦ	ГТА	ГТГ	ТТТ	ТТЦ	ТЦТ	ТЦЦ	ТЦА	ТЦГ	АГТ	АГЦ	ТГТ	ТГЦ
Саны	497	177	495	180	862	501	549	287	402	172	401	93	207	73
ССКП	1,47	0,52	1,47	0,53	1,26	0,74	1,73	0,9	1,27	0,54	1,26	0,29	1,48	0,52
АҚ	Пролин				Тирозин		Изолейцин						Триптофан	
Кодон	ЦЦТ	ЦЦЦ	ЦЦА	ЦЦГ	ТАТ	ТАЦ	АТТ		АТЦ		АТА		ТГГ	
Саны	396	213	293	117	739	165	1025		407		681		418	
ССКП	1,55	0,84	1,15	0,46	1,63	0,37	1,46		0,58		0,97		1	
АҚ	Треонин				Гистидин		Глутамин						Метионин	
Кодон	АЦТ	АЦЦ	АЦА	АЦГ	ЦАТ	ЦАЦ	ЦАА			ЦАГ			АТГ	
Саны	508	205	385	133	471	118	629			214			570	
ССКП	1,65	0,67	1,25	0,43	1,6	0,4	1,49			0,51			1	

Талқылау

Біз анықтаған Кауфман қызғалдағының толық хлоропласт геномы (152 374 ж.н.; ҰБС = 82 369 ж.н.; ҚБС = 17 260 ж.н.; ИҚ = 26 371 ж.н.; 130 ген; жалпы ГЦ = 36,58%) гүлді өсімдіктерге тән төртбөлімді архитектураға ие [43]. *Arabidopsis thaliana* хп-геномы 154 478 ж.н. (ҰБС 84 170 ж.н.; ҚТҚ 17 780 ж.н.; ИҚ 2×26 264 ж.н.; 87 кодталатын ген және 4 рНҚ [44]); *Oryza sativa* – 134 525 ж.н. [45]; *Musa balbisiana* – 169 503 ж.н. (ҰБС 87 828; ҚБС 11 547; ИҚ 2×35 064 ж.н.) [46]; *Ocotea aciphylla* (Lauraceae) – шамамен 152 685 ж.н. (ИҚ ~20 009 ж.н.; ҰБС ~93 859; SSC ~18 818 ж.н.) [47]; *Spinacia oleracea* – 150 725 ж.н. [48]. Ал *Pelargonium × hortorum*-да айтарлықтай ірі және қайта құрылымданған хп-геном анықталған – 217 942 ж.н. (ИҚ 2×75 741 ж.н.) [49], бұл қалыпты көлемнен 1,4 есе артық және бірнеше инверсиялар мен ИҚ кеңеюімен бірге жүреді [49-50]. Керісінше, *T. kaufmanniana*-да ірі инверсиялар немесе қайта құрулар байқалмаған және гендердің орналасуы консервативті, бұл осы туыстағы пластомдардың «тұрақты» эволюциялық сценарийін көрсетеді. Осыған ұқсас жағдай лалгүлділер тұқымдасының басқа өкілдерінде де байқалады. Мысалы, *Lilium longiflorum* хлоропласт геномы 152 793 ж.н. (ҰБС ~82 239 ж.н.; ҚБС ~17 886 ж.н.; ИҚ 2×26 334 ж.н.) [51], ал *L. henryi* шамамен 152 570 ж.н. құрайды [52]. Бұл көрсеткіштер көлемі мен құрылымы жағынан *T. kaufmanniana* пластомымен өте ұқсас. *Fritillaria hupehensis* пен *F.*

unibracteata пластомдары да 151 500–152 000 ж.н. аралығында болып, типтік төртбөлімді архитектураны сақтайды [53]. *Tulipa altaica* геномы (146 887 ж.н.) сәл кіші болғанымен, жалпы құрылымдық ерекшеліктері Кауфман қызғалдағына жақын [54]. Жалпы, Лалгүлділер тұқымдасына жататын түрлердің хлоропласт геномдары бір-біріне ұқсас, Кауфман қызғалдағының пластомымен айырмашылықтары мардымсыз. Ірі инверсиялар немесе қайта құрылымданулар байқалмаған, гендердің орналасуы жоғары деңгейде консервативті. Бұл Кауфман қызғалдағы мен Лалгүлділердің басқа өкілдері эволюциялық тұрғыдан «тұрақты» пластомдық сценарийге ие екенін көрсетеді.

Кауфман қызғалдағының геномында ірі инверсиялар немесе қайта құрылымдар анықталмады, яғни гендердің орналасу реттілігі туыстас түрлермен салыстырғанда сақталған. Бұл тұрақты және қайта құрылымданатын хп-геномдардың екі эволюциялық сценарийін салыстыруға мүмкіндік береді. Мысалы, *Oenothera* туысында ҰБС-да шамамен 56 кб инверсия анықталған (*rbcl* мен *trnQ* гендерінің арасында), ол бүкіл *Oenothera* қосалқы тұқымдасына тән [54], ал бұл *T. kaufmanniana*-ға қарағанда айқын контраст. Ұқсас құбылыс *Asteraceae* тұқымдасында да байқалады, мысалы, *Asteroideae* қосалқы тұқымдасында хпДНҚ-да типтік 22 кб инверсия кездеседі (*rbcl* мен *trnV* арасындағы), ол көптеген астралылар туысның түрлеріне тән [55]. Мұндай қайта құрылымдар филогенетикалық маркерлер ретінде қолданылады. Жалпы, *T. Kaufmanniana*-да тұрақты хп-геномдардың мысалы, ал экстремалды жағдайлар *Pelargonium*, *Oenothera* және *Asteraceae*.

T. kaufmanniana-да ИҚ-аймақтарында ГЦ деңгейі жоғары (шамамен 42%), бұл рРНҚ және рибосомалық ақуыз гендерінің болуымен, сондай-ақ ИҚ-дағы мутациялардың төмен деңгейімен түсіндіріледі [52]. Ұқсас ГЦ-профиль басқа да көптеген хлоропласт геномдарына тән, мысалы, *Laugaseae* (*Ocotea*)-да жалпы ГЦ 39,2%, ал ИҚ аймағында 44,4% құрайды, бұл ҰБС-дағы 37,9–38,0% және ҚБС-дағы 33,9 - 34,0%-дан айтарлықтай жоғары [53]. Мұндай ГЦ молшылығы мен рРНҚ гендерінің қайталануы ИҚ-дың тұрақтандырушы әсерімен байланысты [53]. ИҚ шекараларының өзгеруі геномдық қайта құрылымдарға әкелуі мүмкін: мысалы, *Musa*-да ИҚ-ҚБС шекарасының кеңеюі әдетте бөлек орналасатын гендердің қосылуына әкелген [46], ал *Geraniaceae* тұқымдастарында ИҚ-дың күрделі құрылымдары көптеген қайта құрулар туғызады [49-50]. Ал *T. kaufmanniana*-да ИҚ құрылымы тұрақты болып табылады, бұл хп-геномның салыстырмалы консервативтілігін қамтамасыз етеді.

T. kaufmanniana-да 158 ҚТҚ локусы анықталды, олардың көпшілігі ҰБС және генаралық аймақтарда орналасқан. Мұндай жағдай басқа да түрлерге тән. *Musa*-да 59 хпҚТҚ [56], оның ішінде мономерлі А/Т қайталанулар басым (*M. acuminata* және *M. balbisiana*-да бірнуклеотидті қайталанулардың 92%-дан астамы А/Т құрайды) [56]. *Gladiolus*-та 265 хпҚТҚ анықталған, олардың басым бөлігі А/Т мономерлері [57]. Мұндай үлгілер ҚТҚ-дың популяциялық деңгейде жоғары полиморфтылығын көрсетеді және олар кеңінен қолданылатын молекулалық маркерлер [56]. Демек, *T. kaufmanniana*-дағы ҚТҚ жиынтығы жаңа хпҚТҚ маркерлерін жасауға негіз бола алады, алайда олардың тәжірибелік тексерілуі қажет.

T. kaufmanniana хп-геномында дәстүрлі жоғары аймақтар анықталды, олар *usf1*, *ndhF*, *matK*, *proC2*, *rbcl*, *semA* және бірқатар генаралық локустар. Бұл құбылыс басқа зерттеулер нәтижелерімен сәйкес келеді. Мысалы, *usf1* генінің екі бөлігі (*usf1a* және *usf1b*) жерүсті өсімдіктердің ең өзгермелі аймақтары болып табылған [54] және дәстүрлі баркодтар *matK* пен *rbcl*-дан да тиімдірек екені дәлелденген [54]. Басқа да анықталған гендер (*ndhF*, *proC2*) көптеген тұқымдастарда жоғары вариабельділік көрсеткен [54]. Сондықтан бұл локустар *Tulipa* туысындағы баркодтау және популяциялық зерттеулер үшін маңызды нысандар бола алады.

T. kaufmanniana хп-геномында үшінші позициядағы АТ-құрамының басымдығы және лейцин кодондарының көп болуы байқалды. Ұқсас үлгі *Ocotea* (Lauraceae)-да анықталған, мұнда лейцин 11,8% кодондарды құрайды, ал цистеин небәрі 1,8% [58]. Бұл құбылыс лейциннің көп кодондық әртүрлілігімен және трансляция тиімділігінің эволюциялық сұрыпталуымен байланысты.

Рекомбинация, соның ішінде ИҚ аймақтарындағы «flip-flop» изомериялары хп-геномның құрылымдық динамикасына әсер етеді. Мысалы, трансгенді темекі желілерінде ИҚ-рекомбинация нәтижесінде ҰБС/ҚБС-ның ауысқан изоформалары пайда болғаны байқалған [59]. Алайда *T. kaufmanniana*-да мұндай изоформалар табылған жоқ, бұл оның хп-геномының табиғи жағдайда тұрақтылығын көрсетеді.

Алынған *T. kaufmanniana* хп-геномы филогенетикалық және популяциялық зерттеулер үшін маңызды дереккөз болып табылады. Жоғары дивергентті аймақтар (*ycf1*, *ndhF*, *groC2*) жақын түрлерді баркодтауға жарамды, ал ҚТҚ қайталанулар жаңа хпҚТҚ-маркерлер жасауға негіз бола алады. Бұл маркерлердің тиімділігін тәжірибелік тұрғыда тексеру қажет және олар *Tulipa* туысын молекулалық деңгейде зерттеуде жаңа мүмкіндіктер ашады.

Қорытынды

Қорытындылай келе, бұл жұмыста Қазақстанның эндемик өсімдігі Кауфман қызғалдағының толық хлоропласт геномы табысты түрде анықталып, сипатталды. Кауфман қызғалдағының хлоропласт геномын талдау Қазақстан өсімдіктерінің генетикалық әртүрлілігін сақтауда ғана емес, өсімдіктерде жүретін экологиялық және эволюциялық үдерістерді тереңірек түсінуде де үлкен рөл атқарады. Хлоропласт геномдарын жан-жақты талдау өсімдіктердің бейімделу эволюциясына жарық түсіріп, популяциялардың генетикалық тұрақтылығын анықтауға және табиғи экожүйелердің экологиялық өзгерістерге қалай жауап беретінін түсіндіруге мүмкіндік береді. *Tulipa* туысында түрлерді ажыратуға арналған жаңа хлоропласт маркерлерін ұсыну да зерттеудің маңызды мақсаты болды. Біз нуклеотидтік әртүрлілігі жоғары әрі полиморфизмі тиімді он генді (*groC2*, *semA*, *rbcl*, *rpl36*, *psbH*, *gps3*, *rpl22*, *ndhF*, *ycf1*, *matK*) анықтадық, олар қызғалдақ түрлерін ажыратуда құнды генетикалық маркерлер бола алады. Бұл жоғары полиморфты хлоропласт гендері түрлерді ажырату мен популяциялық зерттеулерде маңызды құрал ретінде қолданылып, болашақта *Tulipa* генетикасы мен эволюциясын зерттеуге, сондай-ақ қорғау стратегияларын әзірлеуге өз үлесін қосады. Мұндай зерттеулер генетикалық маркерлерді қалыптастыруда, өсімдіктердің биогеографиялық тарихын зерделеуде және сирек эндемикалық түрлерді сақтау жоспарларын әзірлеуде аса маңызды.

Авторлардың үлесі

Д. Т. – деректерді жинақтау, формальды талдау, әдістеме, бағдарламалық қамтамасыз ету, визуализация, мақала мазмұнын жазу; **В. А. Ш.** – бағдарламалық қамтамасыз ету, мақала мазмұнын жазу; **М. Б. Р.** – бағдарламалық қамтамасыз ету, бастапқы нұсқасын жазу, деректерді жинақтау, формальды талдау, визуализация; **А.Ө.** – мақала мәтінін жазу; **А. Б. Ш.** – әдістеме, деректерді жинақтау, бағдарламалық қамтамасыз ету, жазуды редакциялау және түзету; **Ш. А. М.** деректерді жинақтау, жазуды редакциялау және түзету, тұжырымдама жасау, формальды талдау, зерттеу, ресурстар, жетекшілік.

Қаржыландыру

Бұл зерттеу BR18574125 «Қазақстанның тамырлы өсімдіктерінің түрлік әртүрлілігінің қазіргі жай-күйін ботаниканың, молекулалық генетиканың және биоинформатиканың заманауи әдістерін қолданып зерттеу» жобасы аясында қаржыландырылды.

Мүдделер қақтығысы

Барлық авторлар мақаланың мазмұнын оқып танысқан және мүдделер қақтығысы жоқ.

Этикалық нормаларды сақтау

Авторлар орындаған бұл мақалада адамдарды немесе жануарларды объектілер ретінде пайдаланған зерттеулер жоқ.

Әдебиеттер тізімі

1. Plants of the World Online. *Tulipa kaufmanniana* Regel. Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew; 2017. <https://doi.org/10.1007/s00606-024-01907-0>
2. Wilford R. *The Plant Lover's Guide to Tulips*. Portland (OR): Timber Press; 2015. p. 62. <https://books.google.com/books?id=en55EAAAQBAJ>
3. Plants of the World Online (POWO) [Internet]. Royal Botanic Gardens, Kew; 2024. <https://powo.science.kew.org>
4. Rouhi, H. R., Shakarami, K., & Afshari, R. T. (2010). Seed treatments to overcome dormancy of waterlily tulip ('*Tulipa kaufmanniana*' Regel.). *Australian Journal of Crop Science*, 4(9), 718-721. https://www.cropj.com/tavakol_4_9_2010_718_721.pdf
5. Ivaschenko AA. *Tulips and other bulbous plants of Kazakhstan*. Almaty: Printing House; 2005. 192 p.
6. Bochanseva Z. *Tyulpany. Morfologiya, citologiya i biologiya*. Tashkent: AS Uzbek SSR Publishing; 1962. 408 p.
7. Golovkin BN, Kitaeva LA, Nemchenko EP. *Dekorativnye rasteniya SSSR*. Moscow: Mysl; 1986. p. 49.
8. Vvedenskiy AI. Genus 272. Tulip — *Tulipa* // In: Komarov VL, editor. *Flora SSSR*. Vol. 4. Moscow–Leningrad: AS USSR; 1935. p. 320-464.
9. Vvedenskiy AI, Kovalevskaya SS. Genus *Tulipa* L. // *Opredelitel rasteniy Sredney Azii*. Vol. 2. Tashkent: FAN; 1971. p. 94-109.
10. Shaimoldina, A. K., Osmonali, B. B., Zhou, Y., Wariss, H. M., Ma, S., & Li, W. (2026). Vascular Plant Diversity and Distribution Patterns in Kazakhstan. *Diversity*, 18(4), 213. <https://doi.org/10.3390/d18040213>
11. Yermagambetova M, Abylgazinova S, Rakhimzhanova A, et al. Genetic diversity of *Tulipa alberti* and *T. greigii* populations in Kazakhstan. *Plants*. 2024;13(18):2667. <https://doi.org/10.3390/plants13182667>
12. Wilson B, Fay MF, Maxted N, et al. Central Asian wild tulip conservation requires a regional perspective. *Biodivers Conserv*. 2021;30:2565-2580. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02165-z>

13. Wild tulips fight to survive in their ancestral home. Current Conservation [Internet]. 2023;17(1). Available from: <https://www.currentconservation.org/wild-tulips-fight-to-survive-in-their-ancestral-home/>
14. Abugalieva S, Ivaschenko A, Turuspekov Y, et al. Comparative analysis of plastome sequences of seven *Tulipa* species. *Int J Mol Sci*. 2024;25(14):7874. <https://doi.org/10.3390/ijms25147874>
15. Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF. The Families of the Monocotyledons. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag; 1985.
16. Zonneveld BJM. The systematic value of nuclear genome size for all species of *Tulipa*. *Plant Syst Evol*. 2009;281:217-245. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0196-7>
17. Christenhusz MJM, Govaerts R, David JC, Hall T, Borland K, Roberts PS, et al. Tiptoe through the tulips: cultural history, molecular phylogenetics and classification of *Tulipa*. *Bot J Linn Soc*. 2013;172(3):280-328. <https://doi.org/10.1111/boj.12061>
18. Prozorovskiy AS. Genus *Tulipa* L. in the flora of Kazakhstan. *Botanicheskiy Zhurnal*. 1949;34(3):230-245.
19. Lazarenko AS. Rare and endangered tulip species of Kazakhstan. *Izv AN KazSSR Ser Biol*. 1971;(2):56-63.
20. Wilson CA, Peruzzi L. Taxonomic and conservation perspectives on wild tulips (*Tulipa* L.). *Biodivers Conserv*. 2020;29:3565-3585. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-02028-8>
21. Kamelin RV. *Tulipa* L. in Central Asia: taxonomy and distribution. *Turczaninowia*. 1998;1(2):5-22.
22. Lee SR, Kim K, Kim YD, Jang CS. Characterization of the complete chloroplast genome of *Maesa japonica*. *Korean J Plant Taxon*. 2021;51(2):123-132. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2021.51.2.123>
23. Sheng W, Zhao B, Liu C, Wang J, Li Y. Complete chloroplast genome analysis of *Galega orientalis*. *BMC Genomics*. 2023;24:56. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09165-3>
24. Liu S, Hu J, Zhang R, Pan J, Li Y, Wang X. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in cucumber. *Sci Rep*. 2021;11:2453. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82004-x>
25. Jansen RK, Cai Z, Raubeson LA, Daniell H, Depamphilis CW, Leebens-Mack J, et al. Analysis of plastid genomes resolves angiosperm relationships. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(49):19369-19374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709121104>
26. Wicke S, Schneeweiss GM, dePamphilis CW, Müller KF, Quandt D. Evolution of the plastid chromosome in land plants. *Plant Mol Biol*. 2011;76:273-297. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9769-4>
27. Ravi V, Khurana JP, Tyagi AK, Khurana P. An update on chloroplast genomes. *Plant Syst Evol*. 2008;271:101-122. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0608-0>
28. Zhang Y, Ma J, Yang B, Li R, Zhu W, Sun L. Comparative chloroplast genome analysis of *Gossypium* species. *Front Plant Sci*. 2019;10:376. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00376>
29. Dong W, Xu C, Li C, Sun J, Zuo Y, Shi S, et al. *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode. *Sci Rep*. 2015;5:8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>
30. Sutula, M., Kakanay, A., Tussipkan, D., Dzhumanov, S., & Manabayeva, S. (2024). Phylogenetic analysis of rare and endangered *Tulipa* Species (Liliaceae) of Kazakhstan based on universal barcoding markers. *Biology*, 13(6), 365. <https://doi.org/10.3390/biology13060365>
31. Kali B, Bekkuzhina S, Tussipkan D, Manabayeva S. A first approach for the in vitro cultivation, storage, and DNA barcoding of the endangered endemic species *Euonymus koopmannii*. *Plants*. 2024;13(16):2174. <https://doi.org/10.3390/plants13162174>

32. Ramazanova M, Tussipkan D, Manabayeva S. DNA barcoding and phylogenetic analysis of Brassicaceae species. *Global Bioethics Journal (GBJ)*. 2025;3(2):214–222.
33. Akhmetollayeva, A. S., Zhumabek, A. T., Sutula, M. Y., Tussipkan, D., & Manabayeva, S. A. (2024). DNA BARCODING ANALYSIS OF THE ASTERACEAE SPECIES FROM KAZAKHSTAN. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, (3S). <https://doi.org/10.11134/symposium.11>
34. Rozov, S. M., Zagorskaya, A. A., Konstantinov, Y. M., & Deineko, E. V. (2022). Three parts of the plant genome: on the way to success in the production of recombinant proteins. *Plants*, 12(1), 38. <https://doi.org/10.3390/plants12010038>
35. Scotti, N., Rigano, M. M., & Cardi, T. (2012). Production of foreign proteins using plastid transformation. *Biotechnology Advances*, 30(2), 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.019>
36. Bock R. Genetic engineering of the chloroplast: novel tools and applications. *Trends Plant Sci*. 2014;19(5):283–292. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.001>
37. Yang, S., Deng, Y., & Li, S. (2022). Advances in plastid transformation for metabolic engineering in higher plants. *Abiotech*, 3(3), 224–232. <https://doi.org/10.1007/s42994-022-00083-4>
38. Shi C, et al. An improved chloroplast DNA extraction procedure for whole plastid genome sequencing. *PLoS One*. 2012;7(2):e31468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031468>
39. Tillich M, et al. GeSeq: versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(W1):W6–W11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx391>
40. Zhong, X. (2020). Assembly, annotation and analysis of chloroplast genomes. <https://doi.org/10.26182/5f333d9ac2bee>
41. Hall, T., Biosciences, I., & Carlsbad, C. J. G. B. B. (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF bull biosci*, 2(1), 60–61. https://www.researchgate.net/publication/258565830_BioEdit_An_important_software_for_molecular_biology
42. Noor F, et al. Identification and characterization of codon usage pattern and influencing factors in HFRS-causing hantaviruses. *Front Immunol*. 2023;14:1131647. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1131647>
43. A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven Ocotea species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the Ocotea complex. *Sci Rep*. 2021;11:4635. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84064-5>
44. Sato, S., Nakamura, Y., Kaneko, T., Asamizu, E., & Tabata, S. (1999). Complete structure of the chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*. *DNA research*, 6(5), 283–290. <https://doi.org/10.1093/dnares/6.5.283>
45. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa*) chloroplast genome: intermolecular recombination between distinct tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals. *Mol Gen Genet*. 1989;217(2–3):185–194. <https://doi.org/10.1007/BF02464880>
46. Complete chloroplast genome sequence of *Musa balbisiana* corroborates structural heterogeneity of inverted repeats in wild progenitors of cultivated bananas and plantains. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158569>
47. Trofimov, D., Cadar, D., Schmidt-Chanasit, J., Rodrigues de Moraes, P. L., & Rohwer, J. G. (2022). A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven Ocotea species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the Ocotea complex. *Scientific Reports*, 12(1), 1120. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04635-4>
48. The plastid chromosome of spinach (*Spinacia oleracea*): complete nucleotide sequence and gene organization. *Plant Cell*. 2001;13(2):373–383. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.2.373>

49. Chumley, T. W., Palmer, J. D., Mower, J. P., Fourcade, H. M., Calie, P. J., Boore, J. L., & Jansen, R. K. (2006). The complete chloroplast genome sequence of *Pelargonium× hortorum*: organization and evolution of the largest and most highly rearranged chloroplast genome of land plants. *Molecular biology and evolution*, 23(11), 2175-2190. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl089>
50. Daniell, H., Lin, C. S., Yu, M., & Chang, W. J. (2016). Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome biology*, 17(1), 134. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1004-2>
51. Zhu, A., Guo, W., Gupta, S., Fan, W., & Mower, J. P. (2016). Evolutionary dynamics of the plastid inverted repeat: the effects of expansion, contraction, and loss on substitution rates. *New Phytologist*, 209(4), 1747-1756. <https://doi.org/10.1111/nph.13743>
52. Trofimov, D., Cadar, D., Schmidt-Chanasit, J., Rodrigues de Moraes, P. L., & Rohwer, J. G. (2022). A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven *Ocotea* species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the *Ocotea* complex. *Scientific Reports*, 12(1), 1120. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04635-4>
53. Li, L., Liu, B., Song, Y., Meng, H. H., Ci, X. Q., Conran, J. G., ... & Li, J. (2025). Global advances in phylogeny, taxonomy and biogeography of Lauraceae. *Plant Diversity*, 47(3), 341-364. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2024.12.004>
54. Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., ... & Zhou, S. (2015). *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific reports*, 5(1), 8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>
55. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88(14):5938-5942. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.14.5938>
56. Complete chloroplast genome sequence of *Musa balbisiana* corroborates structural heterogeneity of inverted repeats in wild progenitors of cultivated bananas and plantains. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158569>
57. Complete chloroplast genome of *Gladiolus gandavensis* (*Gladiolus*) and genetic evolutionary analysis. *Genes*. 2022;13(9):1622. <https://doi.org/10.3390/genes13091622>
58. Khodja, Y. K., Bachir-Bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F., & Khetta, B. (2023). The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of *Laurus nobilis* L. leaves: A review. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10(2), 269-296. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1249843>
59. Zhu, S., Liu, Q., Qiu, S., Dai, J., & Gao, X. (2022). DNA barcoding: an efficient technology to authenticate plant species of traditional Chinese medicine and recent advances. *Chinese medicine*, 17(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00666-3>

**Структурный анализ хлоропластного генома эндемичного
для Казахстана тюльпана Кауфмана (*Tulipa kaufmanniana*)**

**Д.Түсіпқан¹, В.А.Шевцов², М.Б.Рамазанова³, А.Өркен⁴,
А.Б.Шевцов⁵, Ш.А.Манабаева^{*6}**

^{1,2,3,4,5,6} Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан

⁴ Евразийский Национальный университет им. Л.Н.Гумилева

Аннотация. Тюльпан Кауфмана (*Tulipa kaufmanniana*) является эндемиком Казахстана и представляет собой важный вид растений, широко используемый в декоративных целях. В данном исследовании впервые был охарактеризован полный хлоропластный геном этого редкого вида с использованием технологии секвенирования Illumina. В результате установлено, что полный геном *T. kaufmanniana* имеет высокую степень сохранности. Размер генома составил 152 374 п.н., включая две инвертированные повторные области (IR) по 26 371 п.н., одну длинную уникальную область (LSC) в 82 369 п.н. и одну короткую уникальную область (SSC) в 17 260 п.н. Общий уровень GC составил 36,58%. В геноме аннотировано 130 генов, из которых 85 кодируют белки, 38 – тРНК и 8 – рРНК. При анализе простых последовательных повторов (SSR) было выявлено 158 SSR-локусов. Они были сосредоточены преимущественно в LSC-области (63,3%), SSC-области (19%) и IR-области (17,7%). Были зарегистрированы пять категорий SSR (моно-, ди-, три-, тетра- и гексаметные). Наиболее полиморфными белок-кодирующими генами оказались *ycf1*, *matK*, *rpoC2*, *rbcL*, *ndhF*, *cemA*, *rpl22*, *rps3* и *psbH*. Эти гены обладали высоким уровнем варибельности последовательностей ($P_i = 2,570-6,085$) и нуклеотидного разнообразия. Анализ относительного использования синонимичных кодонов (RSCU) выявил как избыточно, так и редко используемые кодоны. В целом, исследование хлоропластного генома тюльпана Кауфмана имеет важное значение для сохранения генетических ресурсов этого редкого эндемичного вида Казахстана, а также для более глубокого понимания его эволюционных и филогенетических особенностей. Полученные данные могут послужить основой для разработки эффективных стратегий охраны биологического разнообразия флоры Казахстана на молекулярном уровне.

Ключевые слова: тюльпан Кауфмана (*Tulipa kaufmanniana*), хлоропластный геном, простые последовательные повторы (SSR), области соединения, использование кодонов, полиморфные белок-кодирующие гены

Structural analysis of the chloroplast genome of the Kazakhstan endemic Kaufmann's tulip (*Tulipa kaufmanniana*)

D. Tussipkan¹, V.A. Shevtsov², M.B. Ramazanova³, A. Orken⁴,
A.B. Shevtsov⁵, Sh.A. Manabayeva^{*6}

^{1,2,3,4,5,6} National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan

⁴ L.N. Gumilyov Eurasian National University

Abstract. Kaufmann's tulip (*Tulipa kaufmanniana*) is an endemic species of Kazakhstan and an important ornamental plant. In this study, the complete chloroplast genome of this rare species was described for the first time using Illumina sequencing technology. The results revealed that the complete genome of *T. kaufmanniana* is highly conserved. The genome size was 152,374 bp, comprising a pair of inverted repeat (IR) regions of 26,371 bp each, a large single-copy (LSC) region of 82,369 bp, and a small single-copy (SSC) region of 17,260 bp. The overall GC content was 36.58%. A total of 130 genes were annotated, including 85 protein-coding genes, 38 tRNA genes, and 8 rRNA genes. Analysis of simple sequence repeats (SSRs) identified 158 loci, predominantly distributed in the LSC region (63.3%), SSC region (19%), and IR regions (17.7%). Five categories of SSRs (mono-, di-, tri-, tetra-, and hexanucleotide) were detected. The most polymorphic protein-coding genes were *ycf1*, *matK*, *rpoC2*, *rbcL*, *ndhF*, *cemA*, *rpl22*, *rps3*, and *psbH*, showing high

sequence variability ($P_i = 2.570-6.085$) and nucleotide diversity. Relative synonymous codon usage (RSCU) analysis revealed both overrepresented and underrepresented codons. Overall, the characterization of the chloroplast genome of *T. kaufmanniana* is essential for the conservation of genetic resources of this rare endemic species, as well as for gaining deeper insights into its evolutionary and phylogenetic features. These findings provide a foundation for developing effective molecular-level strategies for preserving the biological diversity of Kazakhstan's flora.

Keywords: Kaufmann's tulip (*Tulipa kaufmanniana*), chloroplast genome, simple sequence repeats (SSRs), junction regions, codon usage patterns, polymorphic protein-coding genes

References

1. Plants of the World Online. *Tulipa kaufmanniana* Regel. Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew; 2017. <https://doi.org/10.1007/s00606-024-01907-0>
2. Wilford R. *The Plant Lover's Guide to Tulips*. Portland (OR): Timber Press; 2015. p. 62. <https://books.google.com/books?id=en55EAAAQBAJ>
3. Plants of the World Online (POWO) [Internet]. Royal Botanic Gardens, Kew; 2024. <https://powo.science.kew.org>
4. Rouhi, H. R., Shakarami, K., & Afshari, R. T. (2010). Seed treatments to overcome dormancy of waterlily tulip (*Tulipa kaufmanniana* Regel.). *Australian Journal of Crop Science*, 4(9), 718-721. https://www.cropj.com/tavakol_4_9_2010_718_721.pdf
5. Ivaschenko AA. *Tulips and other bulbous plants of Kazakhstan*. Almaty: Printing House; 2005. 192 p.
6. Bochancheva Z. *Tyulpany. Morfologiya, citologiya i biologiya*. Tashkent: AS Uzbek SSR Publishing; 1962. 408 p.
7. Golovkin BN, Kitaeva LA, Nemchenko EP. *Dekorativnye rasteniya SSSR*. Moscow: Mysl; 1986. p. 49.
8. Vvedenskiy AI. Genus 272. Tulip — *Tulipa* // In: Komarov VL, editor. *Flora SSSR*. Vol. 4. Moscow–Leningrad: AS USSR; 1935. p. 320-464.
9. Vvedenskiy AI, Kovalevskaya SS. Genus *Tulipa* L. // *Opredelitel rasteniy Sredney Azii*. Vol. 2. Tashkent: FAN; 1971. p. 94-109.
10. Shaimoldina, A. K., Osmonali, B. B., Zhou, Y., Wariss, H. M., Ma, S., & Li, W. (2026). Vascular Plant Diversity and Distribution Patterns in Kazakhstan. *Diversity*, 18(4), 213. <https://doi.org/10.3390/d18040213>
11. Yermagambetova M, Abylgazinova S, Rakhimzhanova A, et al. Genetic diversity of *Tulipa alberti* and *T. greigii* populations in Kazakhstan. *Plants*. 2024;13(18):2667. <https://doi.org/10.3390/plants13182667>
12. Wilson B, Fay MF, Maxted N, et al. Central Asian wild tulip conservation requires a regional perspective. *Biodivers Conserv*. 2021;30:2565-2580. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02165-z>
13. Wild tulips fight to survive in their ancestral home. *Current Conservation* [Internet]. 2023;17(1). Available from: <https://www.currentconservation.org/wild-tulips-fight-to-survive-in-their-ancestral-home/>
14. Abugalieva S, Ivaschenko A, Turuspekov Y, et al. Comparative analysis of plastome sequences of seven *Tulipa* species. *Int J Mol Sci*. 2024;25(14):7874. <https://doi.org/10.3390/ijms25147874>
15. Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF. *The Families of the Monocotyledons*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag; 1985.

16. Zonneveld BJM. The systematic value of nuclear genome size for all species of Tulipa. *Plant Syst Evol.* 2009;281:217-245. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0196-7>
17. Christenhusz MJM, Govaerts R, David JC, Hall T, Borland K, Roberts PS, et al. Tiptoe through the tulips: cultural history, molecular phylogenetics and classification of Tulipa. *Bot J Linn Soc.* 2013;172(3):280-328. <https://doi.org/10.1111/boj.12061>
18. Prozorovskiy AS. Genus Tulipa L. in the flora of Kazakhstan. *Botanicheskiy Zhurnal.* 1949;34(3):230-245.
19. Lazarenko AS. Rare and endangered tulip species of Kazakhstan. *Izv AN KazSSR Ser Biol.* 1971;(2):56-63.
20. Wilson CA, Peruzzi L. Taxonomic and conservation perspectives on wild tulips (Tulipa L.). *Biodivers Conserv.* 2020;29:3565-3585. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-02028-8>
21. Kamelin RV. Tulipa L. in Central Asia: taxonomy and distribution. *Turczaninowia.* 1998;1(2):5-22.
22. Lee SR, Kim K, Kim YD, Jang CS. Characterization of the complete chloroplast genome of Maesa japonica. *Korean J Plant Taxon.* 2021;51(2):123-132. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2021.51.2.123>
23. Sheng W, Zhao B, Liu C, Wang J, Li Y. Complete chloroplast genome analysis of Galega orientalis. *BMC Genomics.* 2023;24:56. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09165-3>
24. Liu S, Hu J, Zhang R, Pan J, Li Y, Wang X. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in cucumber. *Sci Rep.* 2021;11:2453. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82004-x>
25. Jansen RK, Cai Z, Raubeson LA, Daniell H, Depamphilis CW, Leebens-Mack J, et al. Analysis of plastid genomes resolves angiosperm relationships. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(49):19369-19374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709121104>
26. Wicke S, Schneeweiss GM, dePamphilis CW, Müller KF, Quandt D. Evolution of the plastid chromosome in land plants. *Plant Mol Biol.* 2011;76:273-297. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9769-4>
27. Ravi V, Khurana JP, Tyagi AK, Khurana P. An update on chloroplast genomes. *Plant Syst Evol.* 2008;271:101-122. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0608-0>
28. Zhang Y, Ma J, Yang B, Li R, Zhu W, Sun L. Comparative chloroplast genome analysis of Gossypium species. *Front Plant Sci.* 2019;10:376. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00376>
29. Dong W, Xu C, Li C, Sun J, Zuo Y, Shi S, et al. ycf1, the most promising plastid DNA barcode. *Sci Rep.* 2015;5:8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>
30. Sutula, M., Kakanay, A., Tussipkan, D., Dzhumanov, S., & Manabayeva, S. (2024). Phylogenetic analysis of rare and endangered Tulipa Species (Liliaceae) of Kazakhstan based on universal barcoding markers. *Biology*, 13(6), 365. <https://doi.org/10.3390/biology13060365>
31. Kali B, Bekkuzhina S, Tussipkan D, Manabayeva S. A first approach for the in vitro cultivation, storage, and DNA barcoding of the endangered endemic species Euonymus koopmannii. *Plants.* 2024;13(16):2174. <https://doi.org/10.3390/plants13162174>
32. Ramazanova M, Tussipkan D, Manabayeva S. DNA barcoding and phylogenetic analysis of Brassicaceae species. *Global Bioethics Journal (GBJ).* 2025;3(2):214–222.
33. Akhmetollayeva, A. S., Zhumabek, A. T., Sutula, M. Y., Tussipkan, D., & Manabayeva, S. A. (2024). DNA BARCODING ANALYSIS OF THE ASTERACEAE SPECIES FROM KAZAKHSTAN. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, (3S). <https://doi.org/10.11134/symposium.11>
34. Rozov, S. M., Zagorskaya, A. A., Konstantinov, Y. M., & Deineko, E. V. (2022). Three parts of the plant genome: on the way to success in the production of recombinant proteins. *Plants*, 12(1), 38. <https://doi.org/10.3390/plants12010038>

35. Scotti, N., Rigano, M. M., & Cardì, T. (2012). Production of foreign proteins using plastid transformation. *Biotechnology Advances*, 30(2), 387-397. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.019>
36. Bock R. Genetic engineering of the chloroplast: novel tools and applications. *Trends Plant Sci.* 2014;19(5):283–292. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.001>
37. Yang, S., Deng, Y., & Li, S. (2022). Advances in plastid transformation for metabolic engineering in higher plants. *Abiotech*, 3(3), 224-232. <https://doi.org/10.1007/s42994-022-00083-4>
38. Shi C, et al. An improved chloroplast DNA extraction procedure for whole plastid genome sequencing. *PLoS One*. 2012;7(2):e31468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031468>
39. Tillich M, et al. GeSeq: versatile and accurate annotation of organelle genomes. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(W1):W6–W11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx391>
40. Zhong, X. (2020). Assembly, annotation and analysis of chloroplast genomes. <https://doi.org/10.26182/5f333d9ac2bee>
41. Hall, T., Biosciences, I., & Carlsbad, C. J. G. B. B. (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF bull biosci*, 2(1), 60-61. https://www.researchgate.net/publication/258565830_BioEdit_An_important_software_for_molecular_biology
42. Noor F, et al. Identification and characterization of codon usage pattern and influencing factors in HFRS-causing hantaviruses. *Front Immunol.* 2023;14:1131647. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1131647>
43. A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven *Ocotea* species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the *Ocotea* complex. *Sci Rep.* 2021;11:4635. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84064-5>
44. Sato, S., Nakamura, Y., Kaneko, T., Asamizu, E., & Tabata, S. (1999). Complete structure of the chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*. *DNA research*, 6(5), 283-290. <https://doi.org/10.1093/dnares/6.5.283>
45. The complete sequence of the rice (*Oryza sativa*) chloroplast genome: intermolecular recombination between distinct tRNA genes accounts for a major plastid DNA inversion during the evolution of the cereals. *Mol Gen Genet.* 1989;217(2–3):185–194. <https://doi.org/10.1007/BF02464880>
46. Complete chloroplast genome sequence of *Musa balbisiana* corroborates structural heterogeneity of inverted repeats in wild progenitors of cultivated bananas and plantains. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158569>
47. Trofimov, D., Cadar, D., Schmidt-Chanasit, J., Rodrigues de Moraes, P. L., & Rohwer, J. G. (2022). A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven *Ocotea* species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the *Ocotea* complex. *Scientific Reports*, 12(1), 1120. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04635-4>
48. The plastid chromosome of spinach (*Spinacia oleracea*): complete nucleotide sequence and gene organization. *Plant Cell.* 2001;13(2):373–383. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.2.373>
49. Chumley, T. W., Palmer, J. D., Mower, J. P., Fourcade, H. M., Calie, P. J., Boore, J. L., & Jansen, R. K. (2006). The complete chloroplast genome sequence of *Pelargonium × hortorum*: organization and evolution of the largest and most highly rearranged chloroplast genome of land plants. *Molecular biology and evolution*, 23(11), 2175-2190. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl089>
50. Daniell, H., Lin, C. S., Yu, M., & Chang, W. J. (2016). Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome biology*, 17(1), 134. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1004-2>

51. Zhu, A., Guo, W., Gupta, S., Fan, W., & Mower, J. P. (2016). Evolutionary dynamics of the plastid inverted repeat: the effects of expansion, contraction, and loss on substitution rates. *New Phytologist*, 209(4), 1747-1756. <https://doi.org/10.1111/nph.13743>
52. Trofimov, D., Cadar, D., Schmidt-Chanasit, J., Rodrigues de Moraes, P. L., & Rohwer, J. G. (2022). A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven *Ocotea* species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the *Ocotea* complex. *Scientific Reports*, 12(1), 1120. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04635-4>
53. Li, L., Liu, B., Song, Y., Meng, H. H., Ci, X. Q., Conran, J. G., ... & Li, J. (2025). Global advances in phylogeny, taxonomy and biogeography of Lauraceae. *Plant Diversity*, 47(3), 341-364. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2024.12.004>
54. Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., ... & Zhou, S. (2015). *ycf1*, the most promising plastid DNA barcode of land plants. *Scientific reports*, 5(1), 8348. <https://doi.org/10.1038/srep08348>
55. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88(14):5938-5942. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.14.5938>
56. Complete chloroplast genome sequence of *Musa balbisiana* corroborates structural heterogeneity of inverted repeats in wild progenitors of cultivated bananas and plantains. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158569>
57. Complete chloroplast genome of *Gladiolus gandavensis* (*Gladiolus*) and genetic evolutionary analysis. *Genes*. 2022;13(9):1622. <https://doi.org/10.3390/genes13091622>
58. Khodja, Y. K., Bachir-Bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F., & Khettal, B. (2023). The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of *Laurus nobilis* L. leaves: A review. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10(2), 269-296. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1249843>
59. Zhu, S., Liu, Q., Qiu, S., Dai, J., & Gao, X. (2022). DNA barcoding: an efficient technology to authenticate plant species of traditional Chinese medicine and recent advances. *Chinese medicine*, 17(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00666-3>

Авторлар туралы мәліметтер:

Д. Түсіпқан – ауыл шаруашылығы дақылдарының генетикасы мен селекциясы бойынша PhD, қауымдастырылған профессор, «Өсімдіктердің генетикалық инженериясы» зертханасының жетекші ғылыми қызметкері, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

В. А. Шевцов – магистр, «Өсімдіктер геномикасы мен биоақпараттандыру» зертханасының ғылыми қызметкері, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

М. Б. Рамазанова – жаратылыстану ғылымдарының магистрі, «Өсімдіктердің генетикалық инженериясы» зертханасының кіші ғылыми қызметкері, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

А. Өркен – жаратылыстану ғылымдарының магистрі, Л. Н. Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық университетінің докторанты, «Өсімдіктердің генетикалық инженериясы» зертханасының кіші ғылыми қызметкері, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

А. Б. Шевцов – биология ғылымдарының кандидаты, «Қолданбалы генетика» зертханасының меңгерушісі, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

Ш. А. Манабаева – хат-хабар авторы, профессор, «Өсімдіктердің генетикалық инженериясы» зертханасының меңгерушісі, Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан

Сведения об авторах:

Д. Түсіпқан – PhD по генетике и селекции сельскохозяйственных культур, ассоциированный профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории «Генетической инженерии растений», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

В. А. Шевцов – магистр, научный сотрудник лаборатории «Геномики растений и биоинформатики», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

М. Б. Рамазанова – магистр естественных наук, младший научный сотрудник лаборатории «Генетической инженерии растений», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

А. Өркен – магистр естественных наук, докторант Евразийского национального университета им. Л.Н.Гумилева, младший научный сотрудник лаборатории «Генетической инженерии растений», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

А. Б. Шевцов – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией «Прикладной генетики», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

Ш. А. Манабаева – автор для корреспонденции, профессор, заведующая лабораторией «Генетической инженерии растений», Национальный центр биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан

Authors' information:

D. Tussipkan – PhD in genetics and breeding of agricultural crops, associate professor, leading researcher, “Plants genetic engineering” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan

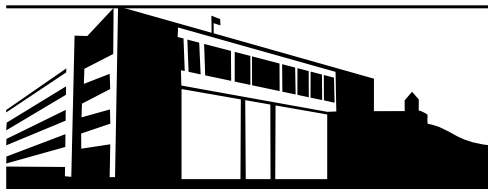
V. A. Shevtsov – MSc, researcher, “Plant genomics and bioinformatics” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan

M. B. Ramazanova – MSc in natural sciences, junior researcher, “Plants genetic engineering” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan

A. Orken – MSc in natural sciences, PhD student of L.N. Gumilyov Eurasian National University, junior researcher, “Plants genetic engineering” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan

A. B. Shevtsov – Candidate of biological sciences, head of the “Applied genetics” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan

Sh. A. Manabayeva – Corresponding author, professor, head of the “Plants genetic engineering” laboratory, National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, 010000, Astana, Kazakhstan



IRSTI 34.29.15
Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-134-148>

Comparative analysis of morphological characters of nivicolous myxomycetes of the family Physaraceae in Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks

Z. Azirakhmet¹, O. Shchepin², M. Schnittler³,
G. Ainagulova⁴, R. Bersimbaev^{5*}

^{1, 4, 5} Institute of Cell Biology and Biotechnology,
L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan.

^{2, 3} Institute of Botany and Landscape Ecology, University of Greifswald,
Soldmannstr. 15, 17489 Greifswald, Germany.

E-mail: ¹zhansaya.azirakhmet@bk.ru, ²oleg.shchepin@uni-greifswald.de,
³martin.schnittler@uni-greifswald.de, ⁴galiya211083@yandex.ru,
⁵ribersim@gmail.com

Abstract. This study presents a comparative analysis of morphological characters of nivicolous myxomycetes of the genus *Physarum* Pers. recorded in the Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks. The aim was to identify diagnostically significant features allowing the delimitation of nivicolous taxa under conditions of high morphological similarity and ongoing taxonomic revision of the family. Material was collected in spring 2025 during active snowmelt in high-mountain regions of Eastern and Southeastern Kazakhstan at elevations of 1570–3180 m a.s.l. Morphological examination of 56 specimens was conducted using light microscopy, focusing on characters of sporocarps, peridium, capillitium, columella, and spores. Four nivicolous taxa were identified: *Badhamia albescens* (Ellis ex T. Macbr.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Nannengaella alpestris* (Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Physarum nivale* (Meyl.) Mar. Mey. & Poulain, and *Physarum verum* Sommerf. The most abundant species was *Ph. verum* (45 specimens), while *N. alpestris*, *Ph. nivale*, and *B. albescens* were represented by 6, 4, and 1 specimens, respectively. The most informative diagnostic characters were the type and shape of fruiting bodies, presence of a stalk, degree and pattern of calcification of the peridium and capillitium, presence and morphology of the columella, and spore size and ornamentation. Specimens of *N. alpestris*, *Ph. nivale*, and *Ph. verum* generally correspond to their protologues, whereas some Kazakh specimens of *B. albescens* show notable differences, suggesting

Received: 17.05.2026. Accepted: 18.06.2026. Available online: 30.06.2026

*Corresponding author

the possible presence of closely related, yet undescribed taxa in the region. The results confirm the high diagnostic value of morphological characters for nivicolous *Physarum* spp. and highlight the perspectives of integrated morphological and molecular studies in Kazakhstan.

Keywords: morphological analysis, high-mountain ecosystems, nivicolous myxomycetes, taxonomy, diagnostic characters, spore ornamentation

Introduction

Plasmodial slime molds (Myxomycetes, Amoebozoa) are a group of amoeboid protists that form macroscopic fruiting bodies—sporocarps—whose morphological characteristics have traditionally served as the basis for their systematics [1,2]. Despite the recent development of molecular phylogenetic method, which were applied as well to Physarales [17], the morphological characteristics of sporocarps remain important for species identification, especially in groups where habitually similar taxa differ in subtle morphological characters.

Among myxomycetes, a distinct ecological guild is the nivicolous, or snowbank myxomycetes, soil-inhabiting species that develop in the spring along the edges of melting snow in mountainous regions of the temperate and subarctic zones. They require a long-lasting snow cover with low positive temperatures, and fruiting upon snow melt when intense solar radiation warms up the soil. Virtually all nivicolous myxomycetes are members of the dark-spored clade, one of the two basal clades of myxomycetes. In addition to their dark spore mass (melanin prevents damage by UV radiation), many nivicolous species are characterized by a dense calcareous peridium, [3,4,7].

According to the latest data, nivicolous myxomycetes account for about 10% of the total species diversity of Myxomycetes and include more than 100 described species, concentrated primarily in the dark-spored families Physaraceae and Didymiaceae [5]. Nivicolous species of the Physaraceae are widely distributed in high-altitude habitats and are characterized by a combination of adaptive morphological similarities and stable diagnostic differences.

Research on nivicolous myxomycetes has been conducted in various mountainous regions of Europe, North Asia, and North America, where their ecological characteristics, seasonal development, and morphological variability have been described [3,4,6–11]. These studies have shown that the structural features of the peridium, capillitia, calcareous deposits, columns, and spores are particularly important for the accurate diagnosis of nivicolous species. However, for the territory of Kazakhstan, such studies remain few and far between and fragmentary [12,13]. The current knowledge of myxomycete diversity in the country is based on records accumulated over more than a century of research, covering different regions and ecological conditions. Nevertheless, many areas remain poorly investigated, particularly high-mountain ecosystems where nivicolous species occur. A recent review of myxomycete records from Kazakhstan summarized the history of research and the currently known species diversity in the country [13]. These data indicate that further studies are needed to improve our understanding of the distribution and ecology of myxomycetes in Kazakhstan. The high-altitude regions of Eastern and Southeastern Kazakhstan, including the Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks, have not yet been specifically studied from the perspective of the comparative morphology of nivicolous representatives of the Physaraceae family.

Most representatives of the Physaraceae family were historically classified within the broad genus *Physarum* Pers. However, modern molecular phylogenetic studies have revealed the

polyphyly of this genus as traditionally understood and have led to a revision of the systematic placement of several species [14–17]. In particular, *Physarum albescens* Ellis ex T. Macbr. was transferred to the genus *Badhamia* Berk., *Physarum alpestre* Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr to *Nannengaella* J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado., and *Ph. nivale* (Meyl.) Mar. Mey. & Poulain will, perhaps with further revisions, be transferred to *Aethaliopsis* Zopf.[17]. These changes, caused by the rule of monophyly for a valid taxonomic unit, underscore the need to reassess the morphological characteristics of the nivicolous taxa in light of current understanding of the Physaraceae system.

In Kazakhstan, the study of nivicolous myxomycetes is of particular relevance, as the country's mountain ecosystems are characterized by a wide range of elevations, diverse slope exposures, and prolonged snow cover in certain high-altitude regions. These factors create favorable habitats for snowmelt species; however, their species diversity and morphological variability remain insufficiently studied. For the first time, a comparative analysis of the morphological characteristics of nivicolous representatives of the Physaraceae family is being conducted for the territories of the Katon-Karagai and Ile-Alatau State National Nature Parks, which helps fill a research gap regarding this group in Kazakhstan.

This study examines four nivicolous taxa of the Physaraceae family: *Badhamia albescens* (Ellis ex T. Macbr.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Nannengaella alpestris* (Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Physarum nivale* and *Physarum verum* Sommerf, identified within the Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks. The aim of the study is to conduct a comparative analysis of their morphological characteristics and to identify the most consistent features relevant for the diagnosis, taxonomic interpretation, and further study of nivicolous myxomycetes in Kazakhstan.

Materials and research methods

The data for this study were collected during the snowmelt period in the Katon-Karagai and Ile-Alatau State National Nature Parks, located in the mountainous regions of Eastern and Southeastern Kazakhstan.

Field research was conducted within the Katon-Karagay State National Nature Park in the Sarymsak River valley, on the gentle northern and eastern slopes of the Sarymsak Range, and in the vicinity of the village of Katon-Karagay, from May 4 to 8, 2025. Collections were made at elevations of 1,570–1,880 m above sea level.

Within the Ile-Alatau State National Nature Park, research was conducted on the northern slopes of the Zailiyskiy Alatau, including the Medeu Gorge, adjacent valleys, the slopes of Mount Shymbulak, and the area around Big Almaty Lake, from April 26 to May 1, 2025. Samples were collected at elevations ranging from 1840 to 3180 meters above sea level.

Specimens of nivicolous myxomycetes from the family Physaraceae were chosen for comparative analysis. The samples were identified based on the morphological concept of species, using the identification keys and descriptions provided in the work by Poulain et al. [18]. Air-dried sporocarps were studied using a Keyence VHX 7000 stereomicroscope (Keyence Corporation, Osaka, Japan) and a Leica DM2500 microscope (Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Wetzlar, Germany). Temporary microscopic slides were prepared by placing fragments of fruiting bodies with capillitium and spores in a drop of water on a microscope slide. Spore size was measured for 50 spores per sample (excluding spore ornamentation), and values are given as the mean $\pm$ standard deviation. The examined specimens were deposited in the private herbarium of M.

Schnittler (abbreviation: sc). The taxonomy in this study follows the nomenclatural database Nomenmyx [19] (Lado et al. 2005–2026).

Results

The study identified four nivicolous taxa of the Physaraceae family: *Badhamia albescens* (= *Physarum albescens*), *Nannengaella alpestris* (= *Physarum alpestre*), *Physarum nivale*, and *Physarum verum*.

A total of 56 samples were analyzed. The most common species was *Physarum verum*, with 45 samples, accounting for the majority of the material studied. *Nannengaella alpestris* was represented by 6 samples, *Physarum nivale* by 4 samples, and *Badhamia albescens* by 1 sample.

The data obtained indicate an unbalanced representation of the studied taxa in the collected material. Within the studied areas (Katon-Karagay and Ile-Alatau national parks), *P. verum* was the most frequently encountered species. This may suggest a wider ecological range and greater adaptability of this species to local nivicolous conditions, although further research is needed to test this hypothesis.

The results of the study of the morphological characteristics of the identified species are presented in the descriptions below and in Table 1.

Taxonomy and morphological comparison of species

Badhamia albescens (Ellis ex T. Macbr.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Persoonia* 51: 109–110 (2023) ≡ *Physarum albescens* Ellis ex T. Macbr., *N. Amer. Slime-moulds*, ed. 2: 86 (1922) = *Leocarpus fulvus* T. Macbr., *N. Amer. Slime-moulds*: 82 (1899) = *Physarum rubronodum* G.W. Martin, *J. Wash. Acad. Sci.* 38(7): 238 (1948)

Study area: Kazakhstan, East Kazakhstan Region, Katon-Karagai District, Katon-Karagai State National Nature Park: Sarymsak River valley, open meadow in a cedar forest, on dry grass and leaves, 49.09531 N, 85.65785 W, 1828 m a.s.l., May 5, 2025, leg. M. Schnittler and O.N. Shchepin, sc37823.

This is one of the most easily recognizable species of the Physaraceae family, known for its stalk, the light, creamish yellowish-ochre or even golden color of its peridium, and the numerous bright yellow capillitium nodules. In classic representatives of this species, the fruiting bodies are usually sporocarps, with sporangia that are ovoid or globose, often on a thin, slender brown stalk. The hypothallus is brown and clearly defined. The peridium is double: the outer layer is dense and calcified to varying degrees, while the inner layer is thin and membranous. The capillitium is well-developed, colorless, reticulate, tubular, with yellow calcareous nodules. The spores are dark in color, with a warty ornamentation.

The sample studied is distinguished by a number of characteristics from both the classic form of *B. albescens* [18,20] and the specimens of *Badhamia* aff. *albescens* discovered in the Ile-Alatau National Park in 2013 [13]. Fruit bodies consist of irregularly shaped sporocarps and short plasmodiocarps, sessile or on a short brown stalk (Fig. 1A). The color of the capillitium also differs: in the studied specimen, the capillitium filaments are pale brown in both reflected and transmitted light, rather than colorless (Fig. 1B). The spores are dark brown in bulk, violet-brown in transmitted light, uniformly warty, and have a diameter of (10.4–) 11.2–12.5 (–13.1) μm (Fig. 1C), which is consistent with classical descriptions.

The combination of a stalk, a distinct hypothallus, and a typical physaroid capillitium with bright yellow nodules reliably distinguishes this species from other nivicolous species of the Physaraceae.

Despite its external distinctiveness, recent genetic data suggest that the name *B. albes-cens* encompasses a complex of closely related biological species [21]. Therefore, this species is important as a model organism for discussing the stability of traditional morphological traits in nivicolous myxomycetes and the dispersal capacity of cryptic soil protist species [21,22].

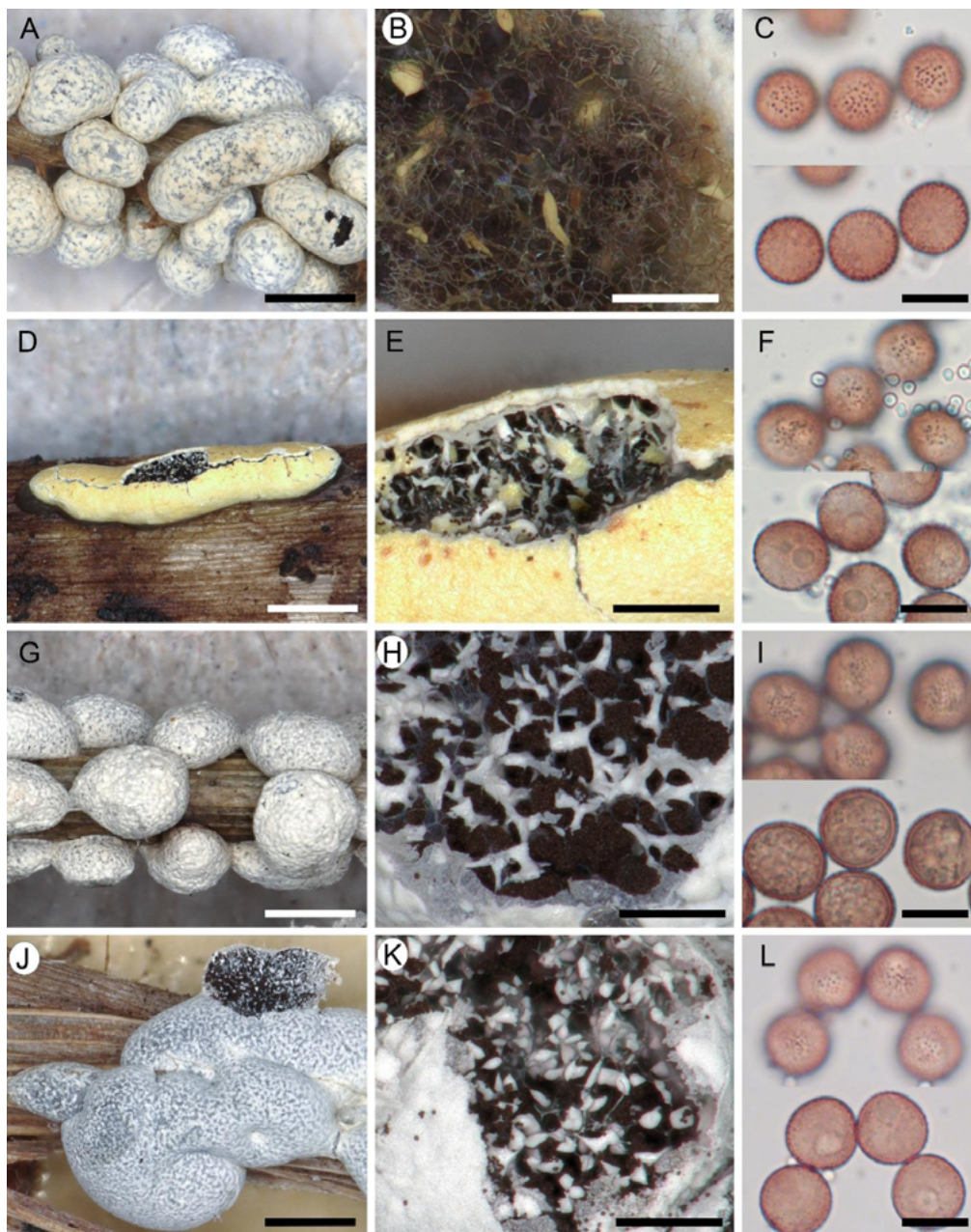


Figure 1. *Badhamia albes-cens* (sc37823) A–C; *Nannengaella alpestris* (sc37814) D–F; *Physarum nivale* (sc37801) G–I; *Physarum vernum* (sc37707) J–L. Fruiting bodies (A, D, G, J); details of the peridium and capillitium (B, E, H, K); spores in transmitted light (C, F, I, L). Scale bars: A, D, G, J = 1000 μ m; B, E, H, K = 200 μ m; C, F, I, L = 10 μ m.

Nannengaella alpestris (Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Persoonia* 51: 110 (2023) $\equiv$ *Physarum alpestre* Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr, *Mycologia* 78(1): 68 (1986)

Study area: Kazakhstan, Almaty, Ile-Alatau State National Nature Park: valley 450 m northeast of the dam in front of the Medeu Stadium, on dry grass, 43.14865 N, 77.06855 W, 1,934 m a.s.l., April 26, 2025, leg. M. Schnittler, O.N. Shchepin, Yu.K. Novozhilov, and Zh. Azirakhmet, sc37678; 43.14867 N, 77.06847 W, 1,940 m a.s.l., sc37660; East Kazakhstan Region, Katon-Karagai District, Katon-Karagay State National Nature Park: Sarymsak River valley, open meadow in a cedar forest, on dry grass, 49.10930 N, 85.66324 W, 1667 m a.s.l., May 5, 2025, leg. M. Schnittler and O.N. Shchepin, sc37814; 49.10918 N, 85.66302 W, 1669 m a.s.l., sc37819; 49.10881 N, 85.66271 W, 1,690 m a.s.l., sc37817; 49.10810 N, 85.66250 W, 1682 m a.s.l., May 7, 2025, sc37851.

This is a typical plasmodiocarpous nivicolous species with a thick, heavily calcified outer peridium. The morphological characteristics of the studied specimens correspond to the protologue [23] (Fig. 1D–F). Fruit bodies are most often clustered or densely grouped; plasmodiocarps are usually more or less elongated, often curved and branched, sometimes forming labyrinthine structures up to 40 mm long; rarely, sessile, cushion-shaped sporocarps are present. The color of the peridium varies from cream-yellow and canary-yellow to ivory. The hypothallus is thin, membranous, transparent, colorless or pale yellow, and usually becomes calcified along the margin of the fruiting bodies. The peridium is double: the thick outer layer is smooth, brittle, corky-calcareous, white, and covered with a yellow transparent membrane as a third layer; the inner layer (the true peridium) is thin, membranous, transparent, and splits irregularly. The capillitium is dense, reticulate, of the badhamoid type in the lower part, with large, branched nodes; above, it is physaroid, with transparent filaments; the nodes vary from large, angular, and branching to small, spindle-shaped, shiny, yellow, ivory-colored, or pale cream. The columella is well-developed, calcified, white, yellow, or creamy white, often forming a central ridge along the plasmodiocarp. Spores are black in bulk, dark purplish-brown in transmitted light, warty, (9.0–) 10.3–11.5 (–12.0) μm in diameter.

The reclassification of this species into *Nannengaella* is well supported by its strong calcification, well-developed calcareous columella, and the general morphological characteristics of representatives of this clade as described in the revision by García-Martín et al. [17].

Nannengaella alpestris is reliably distinguished from other nivicolous species of the family Physaraceae by its elongated plasmodiocarpous fruiting bodies, combined with a strongly calcareous yellow or cream-colored peridium and abundant yellowish, angular or branching lime nodes.

Physarum nivale (Meyl.) Mar. Mey. & Poulain, in Poulain, Meyer & Bozonnet, *Les Myxomycètes*: 551 (2011) $\equiv$ *Badhamia panicea* var. *nivale* Meyl., *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 56: 66 (1925)

Study area: Kazakhstan, East Kazakhstan Region, Katon-Karagay District, Katon-Karagay State National Nature Park: Sarymsak River valley, on dry grass, 49.11287° N, 85.66566° E, 1619 m a.s.l., 04 May 2025, leg. M. Schnittler and O.N. Shchepin, sc37797; 49.11269° N, 85.66648° E, 1611 m a.s.l., sc37801; 49.1119011° N, 85.66550418° E, 1635 m a.s.l., sc37804; 49.09341° N, 85.65755° E, 1844 m a.s.l., 05 May 2025, sc37827.

Physarum nivale is a nivicolous species forming relatively small sessile sporocarps and short, densely clustered plasmodiocarps. The examined specimens collected in Katon-Karagay National Park correspond to the protologue in their main morphological characteristics [24,25] (Fig. 1G–I). The fruiting bodies are usually rounded, sometimes kidney-shaped, and more rarely worm-like elongated; the base is often distinctly compressed. The peridium is greyish, with scat-

tered calcareous thickenings. The capillitium is well developed, reticulate, of the badhamioid type, with large angular and branching nodes densely filled with calcareous granules and connected by thin, hyaline capillitial threads free of lime. The spore mass is dark brown; the spores are finely and evenly verrucose, (11.0–) 11.7–13.1 (–13.9) μm in diameter. Macroscopically, the species strongly resembles *Physarum vernum*, but differs in the more rounded outline of the sporocarps, which only exceptionally form short plasmodiocarps, stronger calcification of the capillitium, and darker spores with a paler side [18]. In its barcodes, both species differ strongly [13].

Physarum nivale belongs to a group of species whose taxonomic placement will probably be revised in the near future. For now, it is retained in the genus *Physarum*; however, its phylogenetic position indicates a close relationship to the type species of the genus *Aethaliopsis* [17].

Physarum vernum Sommerf., Syst. Mycol. 3: 146 (1829) $\equiv$ *Badhamia verna* (Sommerf.) Rostaf., Sluzowce monogr. 145 (1874)

Study area: Kazakhstan, Almaty, Ile-Alatau State National Nature Park: steep lateral ravine with a small stream, ca. 600 m south of the dam above the Medeu stadium, right side, along the road to Shymbulak, near snow patches, on dry grass, 43.14527° N, 77.05899° E, 1900 m a.s.l., 26 April 2025, leg. M. Schnittler, O.N. Shchepin, Yu.K. Novozhilov and Zh. Azirakhmet, sc37672; snow patches in open woodland of *Picea schrenkiana*, small lateral valley above a steep gorge, near snow patches, on dry grass, 43.12724° N, 77.05270° E, 2312 m a.s.l., 27 April 2025, sc37686; 43.12719° N, 77.05297° E, 2307 m a.s.l., sc37687; 43.12699° N, 77.05305° E, 2300 m a.s.l., sc37688; 43.12720° N, 77.05274° E, 2322 m a.s.l., sc37692; 43.12718° N, 77.05269° E, 2318 m a.s.l., sc37693; 43.12821° N, 77.05091° E, 2315 m a.s.l., sc37694; 43.12713° N, 77.05295° E, 2313 m a.s.l., sc37695; snow patches in open woodland of *Picea schrenkiana*, open meadows in the upper part of the valley, near snow patches, on dry grass, 43.12574° N, 77.05403° E, 2331 m a.s.l., sc37696; 43.12509° N, 77.05408° E, 2342 m a.s.l., sc37698; northern slope, left side of the valley across the road, ca. 3.2 km south-southeast of the dam, large open meadows, near snow patches, on dry grass, 43.12494° N, 77.07485° E, 2255 m a.s.l., 29 April 2025, sc37704; 43.12210° N, 77.07536° E, 2279 m a.s.l., sc37706; 43.11986° N, 77.07563° E, 2298 m a.s.l., sc37691; northern slope, left side of the valley across the road, ca. 4.2 km south-southeast of the dam, alpine meadows with deep erosion depressions, near snow patches, on dry grass, 43.11854° N, 77.07418° E, 2376 m a.s.l., sc37707; 43.11504° N, 77.07335° E, 2434 m a.s.l., sc37725; northern slope, left side of the valley across the road, ca. 2.8 km south-southeast of the dam, small open meadows among open woodland of *Picea schrenkiana* Fisch. & C.A.Mey, near snow patches, on dry grass, 43.12800° N, 77.07323° E, 2195 m a.s.l., sc37711; 43.12802° N, 77.07327° E, 2194 m a.s.l., sc37712; 43.12749° N, 77.07333° E, 2215 m a.s.l., sc37713; 43.12746° N, 77.07333° E, 2215 m a.s.l., sc37715; 43.12753° N, 77.07327° E, 2231 m a.s.l., sc37716; 43.12748° N, 77.07332° E, 2207 m a.s.l., sc37719; 43.12508° N, 77.07415° E, 2247 m a.s.l., sc37721; 43.12484° N, 77.07457° E, 2237 m a.s.l., sc37722; 43.12398° N, 77.07542° E, 2257 m a.s.l., sc37724; 43.12802° N, 77.07334° E, 2201 m a.s.l., sc37728; 43.12486° N, 77.07458° E, 2247 m a.s.l., sc37734; 43.12479° N, 77.07465° E, 2253 m a.s.l., sc37735; gentle southern slope above the upper cable car station, below the summit of Shymbulak, near snow patches, on dry grass, 43.11718° N, 77.11378° E, 3169 m a.s.l., 30 April 2025, sc37753; 43.11766° N, 77.11414° E, 3183 m a.s.l., sc37755; steep southern slope below the middle cable car station, near the upper forest limit, near snow patches, on dry grass, 43.11979° N, 77.09930° E, 2802 m a.s.l., sc37749; road from Shymbulak village, near the tourist base, gentle western slopes, isolated snow patches in clearings of open woodland of *Picea schrenkiana*, near snow patches, on dry grass, 43.11375° N, 77.07751° E, 2431 m a.s.l., 1 May 2025, sc37776; 43.11375° N, 77.07755° E, 2438 m a.s.l., sc37777; 43.11345° N, 77.07768° E, 2444 m a.s.l., sc37779; 43.11342° N, 77.07770° E, 2444 m a.s.l., sc37781.

Kazakhstan, East Kazakhstan Region, Katon-Karagay District, Katon-Karagay State National Nature Park: descent along the Sarymsak River valley, middle part of the valley, near snow patches, on dry grass, 49.11545° N, 85.66699° E, 1576 m a.s.l., 4 May 2025, leg. M. Schnittler and O.N. Shchepin, sc37810; 49.11289° N, 85.66557° E, 1619 m a.s.l., sc37796; 49.11158° N, 85.66478° E, 1621 m a.s.l., sc37805; 49.11041° N, 85.66426° E, 1642 m a.s.l., sc37807; 49.11043° N, 85.66413° E, 1646 m a.s.l., sc37809; middle part of the valley, near snow patches, on dry grass, 49.10930° N, 85.66326° E, 1667 m a.s.l., 5 May 2025, sc37816; 49.10918° N, 85.66300° E, 1666 m a.s.l., sc37822; 49.10811° N, 85.66252° E, 1686 m a.s.l., 7 May 2025, sc37853; ascent along the Sarymsak River valley, upper part of the valley, near snow patches, on dry grass, 49.09338° N, 85.65749° E, 1845 m a.s.l., 5 May 2025, sc37825; 49.09336° N, 85.65751° E, 1850 m a.s.l., sc37826; 49.09337° N, 85.65761° E, 1842 m a.s.l., sc37829.

This is a widespread nivicolous species, usually forming short, sinuous, irregularly shaped plasmodiocarps, greyish-white due to abundant calcium carbonate. The morphological characteristics of the specimens examined by us correspond to the protologue [26] (Fig. 1J–L). The plasmodiocarps are variable in shape, confluent, but do not form distinctly sinuous structures; individual fruiting bodies are slightly rounded-flattened, smooth, and, when fused, form broad patches. The peridium is very thin and fragile, dehiscing irregularly and later partly disappearing. A stalk is absent. The capillitium is reticulate, densely branched, physaroid, composed of white calcareous nodes, angular or fusiform, connected by thin hyaline threads; sometimes, due to their shortening, it becomes almost badhamioid in appearance. The spores are dark brown in mass, pale violet-brown in transmitted light, (11.1–) 11.8–12.4 (–12.5) µm in diameter.

Physarum vernum is morphologically closest to *Physarum nivale*; however, it differs from this species by the predominance of large, irregularly shaped plasmodiocarps closely appressed to one another, a more physaroid capillitium with predominantly non-calcareous threads bearing small angular or fusiform nodes, and paler spores.

The phylogenetic position of *Ph. vernum* remains unknown and requires further study, but the two specimens (sc30257 and 30091) clustering with *Physarum nivale* in García-Martín [17] were now revised as *Ph. nivale*.

Table 1
Comparative table of morphological characters

Species	<i>Badhamia albens</i>	<i>Nannengaella alpestris</i>	<i>Physarum nivale</i>	<i>Physarum vernum</i>
Type of fruiting bodies	sporangia, usually clustered, medium to very large colonies	predominantly narrow, elongated plasmodiocarps, often curved, branched, sometimes labyrinthiform; nearly always with small colonies	sporocarps and short plasmodiocarps, medium to large colonies	usually clustered, irregularly shaped plasmodiocarps, more rarely sessile sporocarps, often in large colonies
Stalk	often short, weak	absent	absent	absent
Size of fruiting bodies	small to medium	0.3–1 mm wide, 0.3–0.5 mm high, up to 40 mm long	small	small to large (0.4–0.8 cm) plasmodiocarps

Peridium color	pale yellow, golden, ochre-yellow	cream-yellow, canary-yellow, ivory-colored	greyish to whitish	greyish to whitish
Peridial calcification	abundant, in irregular patches	lime forms a continuous dense crust	abundant, in irregular patches	abundant, in irregular patches
Columella	absent	well-developed, convex, extending along the base of the entire plasmodiocarp, white, yellow, or cream-colored	absent	absent
Capillitium	reticulate, physaroid, with yellow fusiform or angular lime nodes	reticulate, badhamioid in the lower part and physaroid above; nodes yellowish, large and angular or small and fusiform	reticulate, badhamioid, with large branching white lime nodes	reticulate, physaroid, with white fusiform or angular lime nodes connected by thin hyaline threads; locally almost badhamioid
Spores	dark brown in mass, violet-brown in transmitted light, evenly verrucose, (10.4–) 11.2–12.5 (–13.1) μm in diameter	dark brown in mass, pale violet-brown in transmitted light, (11.1–) 11.8–12.4 (–12.5) μm in diameter	dark brown in mass and in transmitted light, finely and evenly verrucose, (11.0–) 11.7–13.1 (–13.9) μm in diameter	moderately dark to dark violet-brown; spores 9.4–18.1 μm in diameter, with variable ornamentation; specimens corresponding to <i>f. parvisporum</i> have spores 11–12 μm in diameter.

Discussion

During the study conducted in Katon-Karagay and Ile-Alatau State National Nature Parks, four nivicolous species of the family Physaraceae were recorded out of the seven known to science: *Badhamia albescens*, *Nannengaella alpestris*, *Physarum nivale*, and *Physarum vernum*. Two of these species (*Physarum nivale* and *Nannengaella alpestris*) are new records for Kazakhstan, while the other two (*Badhamia albescens* and *Physarum vernum*) were recently published as new records for the country [13]. The remaining species, *Nannengaella alpina* (Meyl.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado (= *Physarum alpinum* Meyl.), *Craterium andinum* (Meyl.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado (= *Physarum andinum* Meyl.), and *Badhamia alpina* G. Lister, were not found during the present study.

The examined specimens of *Nannengaella alpestris*, *Physarum nivale*, and *Ph. vernum* possess sets of characters typical of these species and fully correspond to their protologues. This result demonstrates the stability of diagnostically important morphological characters known for these species. At the same time, the specimen of *Badhamia albescens* found in Katon-Karagay National Nature Park in 2025 differs both from the specimens found in Ile-Alatau National Nature Park in 2013 [13] and from the classical forms of *B. albescens* known from the mountain systems of Europe and North America [18]. These differences are substantial enough to suggest that some specimens from Kazakhstan may belong to a species of *Badhamia* unknown to science, close to the heterogeneous species complex of *B. albescens*.

The differences revealed among the studied taxa confirm the particular diagnostic value of several morphological characters for distinguishing nivicolous species of the family Physaraceae. The most informative characters for species delimitation are the type and shape of the fruiting body, the presence of a stalk, the pattern of lime distribution in the peridium and its color, as well as the degree of calcification and color of the capillitium. However, as the latter two characters

are connected to lime deposition, which may be completely absent under suboptimal conditions, they are not well pronounced in all specimens. All these characters have also previously been considered as key for the diagnosis of representatives of Physaraceae [17,27].

Comparison of the obtained data with current taxonomic concepts shows that classical morphological characters of myxomycetes require careful interpretation because of frequent cases of convergent evolution [28–30]. The transfer of *Physarum albescens* to the genus *Badhamia* and *Physarum alpestre* to the genus *Nannengaella* confirms that the traditional broad concept of the genus *Physarum* does not fully reflect the real phylogenetic relationships within Physaraceae [17]. Therefore, similar morphological characters in nivicolous species may be associated not only with phylogenetic relatedness, but also with convergent adaptation to similar ecological conditions.

For Kazakhstan, such studies are of particular importance, since nivicolous myxomycetes of the country's high-mountain regions remain insufficiently studied. The results of the present work add to the knowledge of the morphological diversity of representatives of Physaraceae in the mountain ecosystems of Eastern and South-Eastern Kazakhstan. In addition, the detection of a potentially new species within the *Badhamia albescens* complex confirms the high taxonomic potential of the region and the need for further research.

Thus, the comparative analysis showed that morphological characters remain an important tool for diagnosing nivicolous representatives of Physaraceae; however, they should be considered together with modern molecular phylogenetic data [30]. The main conclusion of the study is that the examined taxa have stable morphological differences that allow species to be distinguished and their taxonomic position to be clarified.

Conclusion

The system of the family Physaraceae is currently undergoing rapid revision. Multigene phylogenetic data have already shown that the traditional broad concept of the genus *Physarum* does not reflect natural evolutionary relationships, and that a considerable proportion of nivicolous species have been or will be reassigned to other genera. Nevertheless, the morphological differences among the nivicolous taxa considered here generally retain their high diagnostic value and allow them to be reliably distinguished through careful analysis of the fruiting bodies, as well as enabling the detection of species potentially new to science.

The results of this study confirm the promise of further research on nivicolous myxomycetes in Kazakhstan, especially when using an integrated approach combining morphological and molecular genetic methods.

Author Contributions

ZA — investigation, formal analysis, writing — original draft preparation. OS — conceptualization, investigation, data processing, formal analysis, methodology development, visualization, writing — original draft preparation. MS — conceptualization, investigation, data collection, methodology development. GA — conceptualization, investigation, data processing. RB — conceptualization, funding acquisition.

Funding

The study was carried out with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan under grant number AP23489210 ("Study of the species and genetic diversity of nivicolous myxomycetes in Eastern and Southern Kazakhstan").

Acknowledgments

The authors express their gratitude to Prof. Yu.K. Novozhilov for his participation in the field studies.

References

1. Martin GW, Alexopoulos CJ. The Myxomycetes. Iowa City: University of Iowa Press; 1969.
2. Keller HW, Everhart SE, Kilgore CM. The myxomycetes: introduction, basic biology, life cycles, genetics, and reproduction. In: Stephenson SL, Rojas C, editors. Myxomycetes: biology, systematics, biogeography and ecology. 2nd ed. London: Academic Press; 2022. p. 1–45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824281-0.00003-8>
3. Woyzichovski J, Shchepin ON, Schnittler M. High environmentally induced plasticity in spore size and numbers of nuclei per spore in *Physarum albescens* (Myxomycetes). Protist. 2022;173(5):125904. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2022.125904>
4. Ronikier A, Ronikier M. How 'alpine' are nivicolous myxomycetes? A worldwide assessment of altitudinal distribution. Mycologia. 2009;101(1):1-16. <https://doi.org/10.3852/08-090>
5. Schnittler M, Novozhilov YK, Stephenson SL. Ecology and distribution of nivicolous myxomycetes. In: Stephenson SL, Rojas C, editors. Myxomycetes: Biology, Systematics, Biogeography, and Ecology. London: Academic Press; 2015. p. 253-271.
6. Tamayama M. Nivicolous taxa of Myxomycetes in Japan. Stapfia. 2000;73:121–129.
7. Schnittler M, Erastova DA, Shchepin ON, Heinrich E, Novozhilov YK. Four years in the Caucasus: observations on the ecology of nivicolous myxomycetes. Fungal Ecology. 2015;14:105-115. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.01.003>
8. Erastova DA, Novozhilov YK, Schnittler M. Nivicolous myxomycetes of the Khibiny Mountains, Kola Peninsula, Russia. Nova Hedwigia. 2017;104:85–110. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2015/0274
9. Borg Dahl M, Shchepin ON, Schunk C, et al. A four year survey reveals a coherent pattern between occurrence of fruit bodies and soil amoebae populations for nivicolous myxomycetes. Scientific Reports. 2018;8:11662. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-30131-3>
10. Inoue M, Woyzichovski J, López-Villalba Á, et al. Using barcoding to reveal ecological patterns of nivicolous myxomycetes in the German Alps: How do they deal with varying snow conditions? Fungal Ecology. 2024;71:101374. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2024.101374>
11. Novozhilov YK, Shchepin ON, Prikhodko IS, et al. Nivicolous myxomycetes from Kamchatka: barcode-assisted species identification. Nova Hedwigia. 2026;122:155–179. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2025/1093
12. Rakhimova EV, Kyzmetova LA, Assylbek AM, et al. New data for the mycobiota of the Boguty Mountains (Kazakhstan). Problems of Botany of South Siberia and Mongolia. 2022;21:155–159. <https://doi.org/10.14258/pbssm.2022074>

13. Azirakhmet Z, Shchepin O, Inoue M, Kussainova A, Bersimbaev R, Schnittler M. First records of nivicolous myxomycetes (Amoebozoa) from Kazakhstan. *European Journal of Protistology*. 2025;100:126161. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2025.126161>
14. Nandipati SCR, Haugli K, Coucheron DH, et al. Polyphyletic origin of the genus *Physarum* (Physarales, Myxomycetes) revealed by nuclear rDNA mini-chromosome analysis and group I intron synapomorphy. *BMC Evolutionary Biology*. 2012;12:166. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-166>
15. Leontyev DV, Schnittler M, Stephenson SL, et al. Towards a phylogenetic classification of the Myxomycetes. *Phytotaxa*. 2019;399:209–238. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.399.3.5>
16. Cainelli R, de Haan M, Meyer M, et al. Phylogeny of Physarida (Amoebozoa, Myxogastria) based on the small-subunit ribosomal RNA gene, redefinition of *Physarum pusillum* s. str. and reinstatement of *P. gravidum* Morgan. *J Eukaryot Microbiol*. 2020;67:327–336. <https://doi.org/10.1111/jeu.12783>
17. García-Martín JM, Zamora JC, Lado C. Multigene phylogeny of the order Physarales (Myxomycetes, Amoebozoa): shedding light on the dark-spored clade. *Persoonia*. 2023;51:89–124. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2023.51.02>
18. Poulain M, Meyer M, Bozonnet J. Les Myxomycètes (Vol. 1–2). Fédération Mycologique et Botanique Dauphiné-Savoie, Sévrier; 2011.
19. Lado C. An on-line nomenclatural information system of Eumycetozoa [Internet]. 2005–2025 [cited 2026 Apr 21] Available from: <http://www.eumycetozoa.com>
20. Macbride TH. The North American slime-moulds; A descriptive list of all species of myxomycetes hitherto reported from the continent of North America, with notes on some extralimital species. 2nd ed. New York, London: MacMillan and Co.; 1922.
21. Shchepin O, Novozhilov Y, Woyzichovski J, et al. Genetic structure of the protist *Physarum albescens* (Amoebozoa) revealed by multiple markers and genotyping by sequencing. *Molecular Ecology* 2021;31:372–390. <https://doi.org/10.1111/mec.16239>
22. Dagamac NHA, Bauer B, Woyzichovski J, Shchepin ON, Novozhilov YK, Schnittler M. Where do nivicolous myxomycetes occur? Modeling the potential worldwide distribution of *Physarum albescens*. *Fungal Ecology*. 2021;53:101079. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2021.101079>
23. Mitchel DH, Chapman SW, Farr ML. Notes on Colorado fungi V: *Physarum alpestre*, a new species. *Mycologia*. 1986;78:66–69.
24. Meylan C. Note sur divers Myxomycetes de Jura et des Alpes. *Bull Soc Vaud Sci Nat*. 1925;56:65–74.
25. Kowalski DT. The Myxomycete Taxa Described by Charles Meylan. *Mycologia*. 1975;67:448–494. <https://doi.org/10.1080/00275514.1975.12019774>
26. Fries EM. *Systema mycologicum Myxogastres*. Gryphiswald: E. Mauritius; 1829.
27. Stephenson SL, Novozhilov YK, Prikhodko IS. A new species of *Physarum* (Myxomycetes) from Christmas Island, Australia. *Novosti Sistematiки Nizshikh Rastenii*. 2020;54(2):397–404. <https://doi.org/10.31111/nsnr/2020.54.2.397>
28. Ronikier A, Janik P, De Haan M, et al. Importance of type specimen study for understanding genus boundaries—taxonomic clarifications in *Lepidoderma* based on integrative taxonomy approach leading to resurrection of the old genus *Polyschismium*. *Mycologia*. 2022;114:1008–1031. <https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2109914>
29. Bortnikov FM, Bortnikova NA, Gmoshinskiy VI, et al. Additions to *Trichia botrytis* complex (Myxomycetes): 9 new species. *Botanica Pacifica*. 2023;12(2):81–119. <https://doi.org/10.17581/bp.2023.12s03>

30. Prikhodko IS, Shchepin ON, Bortnikova NA, et al. A three-gene phylogeny supports taxonomic rearrangements in the family Didymiaceae (Mycetozoa). Mycological Progress 2023;22:11. <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01858-1>

Катонқарағай және Іле-Алатауы мемлекеттік ұлттық табиғи паркттері аумақтарындағы Physaraceae тұқымдасына жататын нивальды миксомицеттердің морфологиялық белгілеріне салыстырмалы талдау

Ж. Азирахмет¹, О. Щепин², М. Шниттлер³, Г. Айнагулова⁴, Р. Берсимбай^{*5}

^{1,4,5} Жасушалық биология және биотехнология институты, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан.

^{2,3} Ботаника және ландшафт экологиясы институты, Грайфсвальд университеті, Зольдманнштрассе көшесі, 15, 17489 Грайфсвальд, Германия.

Аңдатпа. Бұл зерттеуде Катонқарағай және Іле-Алатауы мемлекеттік ұлттық табиғи паркттері аумағында анықталған *Physarum Pers.* туысына жататын нивальды миксомицеттердің морфологиялық белгілеріне салыстырмалы талдау жүргізілді. Жұмыстың мақсаты – морфологиялық ұқсастығы жоғары және тұқымдастың таксономиялық қайта қаралуы жалғасып жатқан жағдайда нивальды таксондарды ажыратуға мүмкіндік беретін диагностикалық маңызды белгілерді анықтау. Зерттеу материалы 2025 жылдың көктемінде Шығыс және Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның биік таулы аймақтарында қардың белсенді еру кезеңінде, теңіз деңгейінен 1570–3180 м биіктікте жиналды. Жарық микроскопиясы әдісімен 56 үлгіге морфологиялық зерттеу жүргізіліп, спорокарптардың, перидийдің, капиллицийдің, колумелланың және споралардың белгілеріне ерекше назар аударылды. Нивальды миксомицеттердің төрт таксоны анықталды: *Badhamia albescens* (Ellis ex T. Macbr.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Nannengaella alpestris* (Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Physarum nivale* (Meyl.) Mar. Mey. & Poulain және *Physarum vernum* Sommerf. Ең көп кездескен түр *Ph. vernum* болды (45 үлгі), ал *N. alpestris*, *Ph. nivale* және *B. albescens* сәйкесінше 6, 4 және 1 үлгімен ұсынылды. Ең маңызды диагностикалық белгілер ретінде жемісті денелердің типі мен пішіні, аяқшасының болуы, перидий мен капиллицийдің әктену дәрежесі мен сипаты, колумелланың болуы мен морфологиясы, сондай-ақ споралардың мөлшері мен орнаментациясы анықталды. *N. alpestris*, *Ph. nivale* және *Ph. vernum* үлгілері жалпы алғанда өздерінің бастапқы сипаттамаларына сәйкес келеді, ал *B. albescens* түрінің кейбір қазақстандық үлгілері айтарлықтай айырмашылықтар көрсетіп, өңірде әлі сипатталмаған жақын туыстас таксондардың болуы мүмкін екенін көрсетеді. Алынған нәтижелер нивальды *Physarum* өкілдері үшін морфологиялық белгілердің жоғары диагностикалық маңызын растайды және Қазақстандағы кешенді морфологиялық әрі молекулалық зерттеулердің болашағы зор екенін көрсетеді.

Түйін сөздер: морфологиялық талдау, биік таулы экожүйелер, Қазақстан, таксономия, диагностикалық белгілер, споралардың орнаментациясы

Сравнительный анализ морфологических признаков нивальных миксомицетов семейства Physaraceae на территориях Катон-Карагайского и Иле-Алатауского государственных национальных природных парков

Ж. Азирахмет¹, О. Щепин², М. Шниттлер³, Г. Айнагулова⁴, Р. Берсимбай*⁵

^{1,4,5} Институт клеточной биологии и биотехнологии, кафедра общей биологии и геномики, Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан.

^{2,3} Институт ботаники и ландшафтной экологии, Грайфсвальдский университет, ул. Зольдманнштрассе 15, 17489 Грайфсвальд, Германия.

Аннотация. В настоящем исследовании представлен сравнительный анализ морфологических признаков нивальных миксомицетов рода *Physarum* Pers., выявленных на территории Катон-Карагайского и Иле-Алатауского государственных национальных природных парков. Целью работы являлось выявление диагностически значимых признаков, позволяющих разграничивать нивальные таксоны в условиях высокой морфологической сходности и продолжающейся таксономической ревизии семейства. Материал был собран весной 2025 года в период активного снеготаяния в высокогорных районах Восточного и Юго-Восточного Казахстана на высотах 1570–3180 м над уровнем моря. Морфологическое исследование 56 образцов проведено с использованием световой микроскопии с акцентом на изучение признаков спорокарпов, перидия, капиллиция, колумеллы и спор. Выявлено четыре нивальных таксона: *Badhamia albescens* (Ellis ex T. Macbr.) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Nannengaella alpestris* (Mitchel, S.W. Chapm. & M.L. Farr) J.M. García-Martín, J.C. Zamora & Lado, *Physarum nivale* (Meyl.) Mar. Mey. & Poulain и *Physarum vernum* Sommerf. Наиболее многочисленным видом оказался *Ph. vernum* (45 образцов), тогда как *N. alpestris*, *Ph. nivale* и *B. albescens* были представлены соответственно 6, 4 и 1 образцом. Наиболее информативными диагностическими признаками оказались тип и форма плодовых тел, наличие ножки, степень и характер обызвествления перидия и капиллиция, наличие и морфология колумеллы, а также размеры и орнаментация спор. Образцы *N. alpestris*, *Ph. nivale* и *Ph. vernum* в целом соответствуют своим протограмм, тогда как некоторые казахстанские образцы *B. albescens* демонстрируют заметные отличия, указывающие на возможное присутствие в регионе близкородственных, ещё не описанных таксонов. Полученные результаты подтверждают высокую диагностическую ценность морфологических признаков для нивальных представителей рода *Physarum* и подчёркивают перспективность комплексных морфологических и молекулярных исследований в Казахстане.

Ключевые слова: морфологический анализ, высокогорные экосистемы, Казахстан, таксономия, диагностические признаки, орнаментация спор

Авторлар туралы мәлімет:

Азирахмет Жансая Сулейменқызы – жаратылыстану ғылымдарының магистрі, Жасушалық биология және биотехнология институты зертханасының ғылыми қызметкері, Қажымұқан көшесі, 13, 010000, Астана, Қазақстан.

Щепин Олег Николаевич – биология ғылымдарының кандидаты, Грайфсвальд университетінің Ботаника және ландшафттық экология институтының ғылыми қызметкері, Зольдманнштрассе көшесі, 15, 17487, Грайфсвальд, Германия.

Шниттлер Мартин – профессор, философия докторы (Ph.D.), Грайфсвальд университетінің Ботаника және ландшафттық экология институтының директоры, Зольдманнштрассе көшесі, 15, 17487, Грайфсвальд, Германия.

Айнагулова Галия Сиюндуковна – PhD докторы, Жалпы биология және геномика кафедрасының аға оқытушысы, Қажымұқан көшесі, 13, 010000, Астана, Қазақстан.

Берсімбай Рахметқажы Искендірұлы – корреспондент автор, Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының академигі, биология ғылымдарының докторы, профессор, Жасушалық биология және биотехнология институтының директоры, Қажымұқан көшесі, 13, 010000, Астана, Қазақстан.

Сведения об авторах:

Азирахмет Жансая Сулейменқызы – магистр естественных наук, научный сотрудник лаборатории Института клеточной биологии и биотехнологии, Кажымукан, 13, 010000, Астана, Казахстан.

Щепин Олег Николаевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник Института ботаники и ландшафтной экологии Грайфсвальдского университета, ул. Зольдманнштрассе 15, 17487 Грайфсвальд, Германия.

Шниттлер Мартин – профессор, доктор философии (Ph.D.), директор Института ботаники и ландшафтной экологии Грайфсвальдского университета, ул. Зольдманнштрассе 15, 17487 Грайфсвальд, Германия.

Айнагулова Галия Сиюндуковна – доктор Ph.D, старший преподаватель кафедры общей биологии и геномики, Кажымукан, 13, 010000, Астана, Казахстан.

Берсимбай Рахметқажы Искендинович – автор-корреспондент, Академик НАН РК, доктор биологических наук, профессор, директор Института клеточной биологии и биотехнологии, Кажымукан, 13, 010000, Астана, Казахстан.

Authors' information:

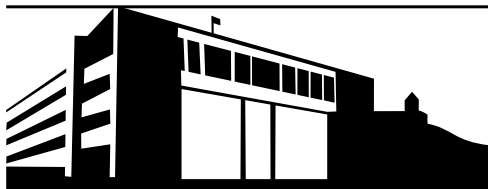
Zhansaya Azirakhmet – Master of Natural Sciences, researcher at the laboratory of the Institute of Cell Biology and Biotechnology, 13 Kazhymukan Street, 010000, Astana, Kazakhstan.

Oleg Shchepin – candidate of biological science (Ph.D.), researcher, Institute of Botany and Landscape Ecology, University of Greifswald, Soldmannstr. 15, 17489 Greifswald, Germany.

Martin Schnittler – Professor, Ph.D., director of the Institute of Botany and Landscape Ecology, University of Greifswald, Soldmannstr. 15, 17489 Greifswald, Germany.

Galiya Ainagulova – PhD, Senior Lecturer at the Department of General Biology and Genomics, 13 Kazhymukan Street, 010000 Astana, Kazakhstan.

Rakhmetkazhy Bersimbaev – corresponding author, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of the Institute of Cell Biology and Biotechnology, Kazhymukan Street, 13, 010000, Astana, Kazakhstan.



IRSTI 65.63.33; 62.09.39
Scientific article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-149-162>

Isolation and characterization of autochthonous lactic acid bacteria from camel milk cheese for starter culture development

A. A. Utebaeva¹ , E. A. Gabrilyants^{2*} , Zh. A. Abish³ , A. A. Ablash⁴

^{1,2,3,4} M. Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, Kazakhstan

E-mail: ¹aidana.utebaeva@gmail.com, ²gabrilyants@mail.ru,
³abish.zhansaya95@mail.ru, ⁴aikosha_1999@inbox.ru

Abstract. Camel milk represents a promising raw material for cheesemaking due to its high nutritional value; however, its processing is constrained by slow acidification kinetics and specific protein composition, which limit the effectiveness of conventional starter cultures developed for cow milk. This study aimed to isolate and characterize autochthonous lactic acid bacteria (LAB) from camel milk cheese and to evaluate their technological properties as potential candidates for starter culture development. Microorganisms were isolated by cultivation on selective media followed by purification. Preliminary characterization was performed based on morphological, gram-staining, and cultural characteristics, and taxonomic identification was subsequently confirmed by 16S rRNA gene sequence analysis. Acidification capacity was assessed through pH reduction and titratable acidity, while inhibitory activity of cell-free culture supernatants was evaluated against selected test cultures. Three LAB strains were isolated and identified as *Lactiplantibacillus* sp., *Leuconostoc mesenteroides*, and *Streptococcus thermophilus*. All isolates were gram-positive and demonstrated pronounced acid-producing activity during 48 h of incubation. *Streptococcus thermophilus* exhibited the highest fermentative activity, reaching pH 3.9 and titratable acidity of 120°T. Selective inhibitory activity was observed against *Salmonella enteritidis*, whereas no inhibitory activity was detected toward *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results indicate that autochthonous LAB isolated from camel milk cheese possess significant technological potential and may represent promising candidates for the future development of specialized starter cultures. Further studies on their safety, functional characteristics, and technological performance are required before practical application in camel milk cheesemaking.

Keywords: camel milk cheese, lactic acid bacteria, autochthonous strains, morphology, antagonistic properties

Received: 22.02.2026. Accepted: 18.06.2026. Available online: 30.06.2026

*Corresponding author

Introduction

In recent years, there has been a steady increase in scientific and practical interest in camel milk as an alternative dairy product with distinctive physico-chemical and technological properties. Compared to cow's milk, camel milk is characterized by a different protein profile, higher buffering capacity, and slower acidification kinetics, which substantially affect coagulation processes and cheese structure formation [1-4]. These features limit the effectiveness of standard starter cultures developed for cow's milk and necessitate the development of specialized biotechnological solutions for camel milk processing.

A promising strategy involves the use of autochthonous lactic acid bacteria that constitute the natural microbiocenosis of camel milk and traditional fermented products derived from it. Previous studies have demonstrated that indigenous strains belonging to the genera *Lactiplan-tibacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, and *Streptococcus* exhibit high acidification activity, adaptation to the specific milk matrix, and antagonistic properties against undesirable microflora [5-8]. The application of such microorganisms as starter or adjunct cultures contributes to increased product yield, improved microbiological stability, and the development of characteristic flavor and aroma profiles in cheeses [9, 10].

This line of research is particularly relevant for the Republic of Kazakhstan, where camel husbandry and the production of traditional camel milk products are predominantly carried out within localized microbiological ecosystems. Despite the availability of isolated studies on the microflora of camel milk, systematic information on technologically significant autochthonous strains isolated from locally produced cheeses remains limited. Globally, commercial starter cultures adapted to cow's milk are still predominantly used in camel milk cheese production, which does not allow full exploitation of the regional microbiota potential [4, 11-13].

The investigation of autochthonous lactic acid bacteria is of considerable scientific and practical importance, as it expands current knowledge of LAB biodiversity in non-bovine dairy systems and facilitates the identification of strains with desirable technological properties for dairy fermentation. Such studies provide a scientific basis for the future development of specialized starter cultures adapted to the unique physicochemical characteristics of camel milk cheesemaking [7, 14].

Therefore, the aim of the present study was to isolate and characterize autochthonous lactic acid bacteria from camel milk cheese and to evaluate their technological properties, including acidification capacity and inhibitory activity, as a preliminary step toward the selection of potential starter culture candidates.

Materials and research methods

Study object and sample preparation

Cheese produced from raw camel milk (*Camelus dromedarius*) collected in the Turkestan region of the Republic of Kazakhstan was used as the study material. Fresh milk was processed without thermal treatment using a traditional cheesemaking procedure without the addition of starter cultures. The obtained cheese samples were stored at 12 °C and 95% relative humidity for 3 days prior to microbiological analysis.

Isolation and preliminary characterization of lactic acid bacteria

Lactic acid bacteria (LAB) were isolated using the standard serial dilution plating technique on de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) agar (Condalab, Spain). Cheese samples (10 g) were homogenized in sterile distilled water, serially diluted up to 10^{-7} , and 0.1 mL aliquots were spread onto

MRS agar plates. Incubation was carried out aerobically at 37 °C for 48 h. Colonies exhibiting typical LAB morphology were counted and selected. All experiments were performed in duplicate.

Presumptive LAB isolates were identified based on Gram staining and catalase activity. Gram-positive, catalase-negative colonies were purified by repeated streaking on MRS agar and incubated at 37 °C for 48 h. Cell morphology was examined microscopically after methylene blue staining.

16S rRNA

The taxonomic classification of the bacterial strains was determined based on 16S rRNA gene sequencing using the Sanger method. Sequencing of bacterial 16S rRNA gene fragments was performed on a 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA) using the Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) in accordance with the manufacturer's protocol [BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol, Applied Biosystems, USA].

Phylogenetic analysis was performed using MEGA 6 software.

Assessment of milk coagulation and acidification activity

Milk coagulation ability was evaluated by inoculating purified LAB isolates into commercially available sterile cow milk "Lactel" (1.5% fat content), followed by incubation at 37 °C for 48 h. Coagulum formation was visually assessed.

Acidifying ability of the strains during cultivation in growth medium. The pH and titrated acidity (°T) values were determined in bacterial cultures grown in MRS broth (Condalab, Spain) at 0, 24, and 48 h of incubation.

Evaluation of inhibitory activity

Inhibitory activity of cell-free supernatants of lactic acid bacteria was assessed using the agar well diffusion method against *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. Indicator strains were cultured on meat-peptone agar. Cell-free supernatants of LAB cultures were introduced into agar wells, and plates were incubated under appropriate conditions. Inhibition zones were measured in millimeters to quantify antimicrobial activity.

Statistical analysis

All experiments were performed in duplicate, and results are presented as mean ± standard deviation. Data processing was carried out using standard descriptive statistical methods.

Results

Microbial growth was observed in the first four decimal dilutions following incubation at 37 °C (Figure 1), indicating high viability of the microflora in the analyzed sample. Confluent and semi-confluent growth was recorded in the 10⁻¹-10⁻² dilutions, reflecting a high concentration of microbial cells in the original product. Clearly isolated colonies suitable for subsequent isolation and identification were formed at the 10⁻³-10⁻⁴ dilutions, whereas at higher dilutions (10⁻⁵-10⁻⁷) microbial growth was markedly reduced or absent.

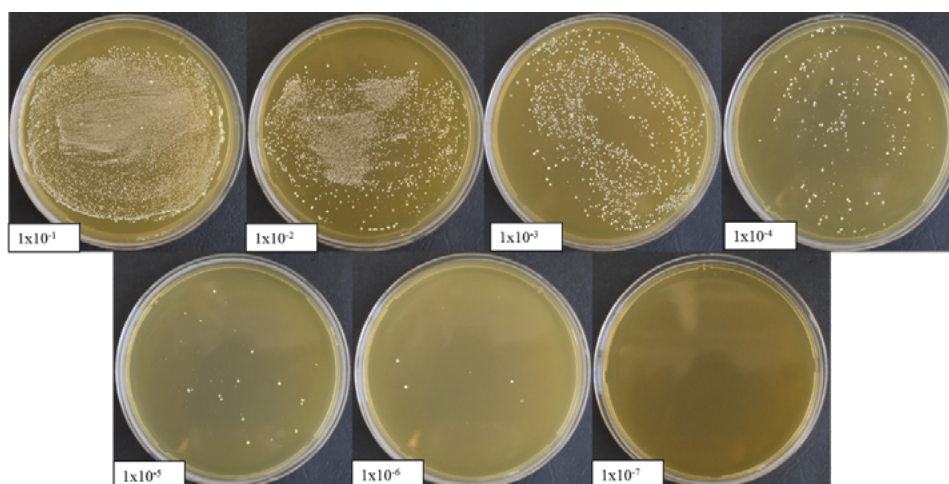


Figure 1. Microbial growth of camel milk cheese samples at 10^{-4} dilution after incubation at 37 °C for 48 h.

The colonies were predominantly circular in shape, with smooth margins and a matte or slightly glossy surface (Figure 2), which is characteristic of lactic acid bacteria.

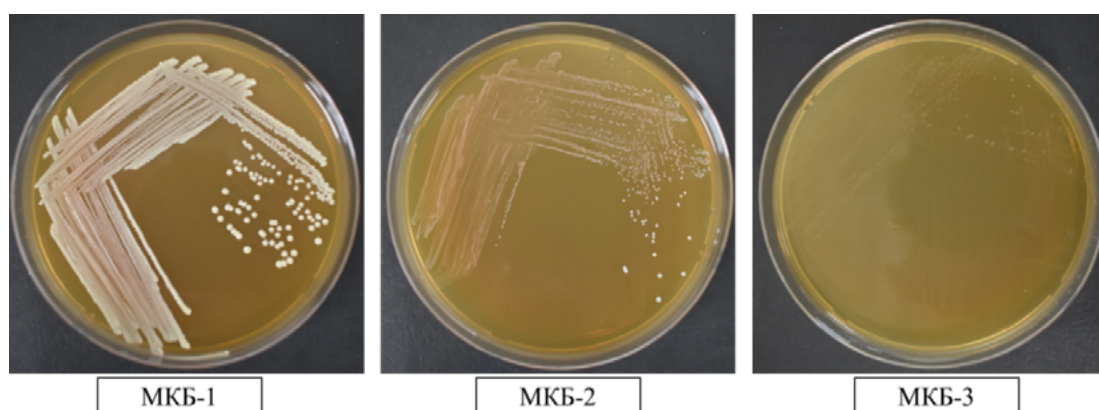
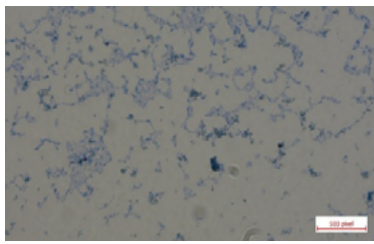
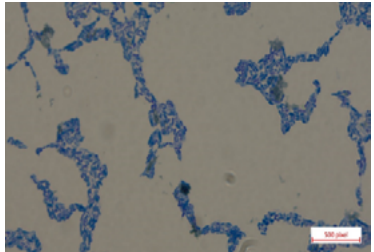


Figure 2. Colony morphology of the isolated lactic acid bacteria

Three bacterial isolates were obtained through microbiological analysis, all of which were Gram-positive and catalase-negative. Microscopic observation revealed cells with both rod-shaped and coccoid morphologies. Based on preliminary identification, the isolates were assigned to *Lactiplantibacillus* sp., *Leuconostoc mesenteroides*, and *Streptococcus thermophilus* (Table 1).

Table 1

Colony and cell morphology

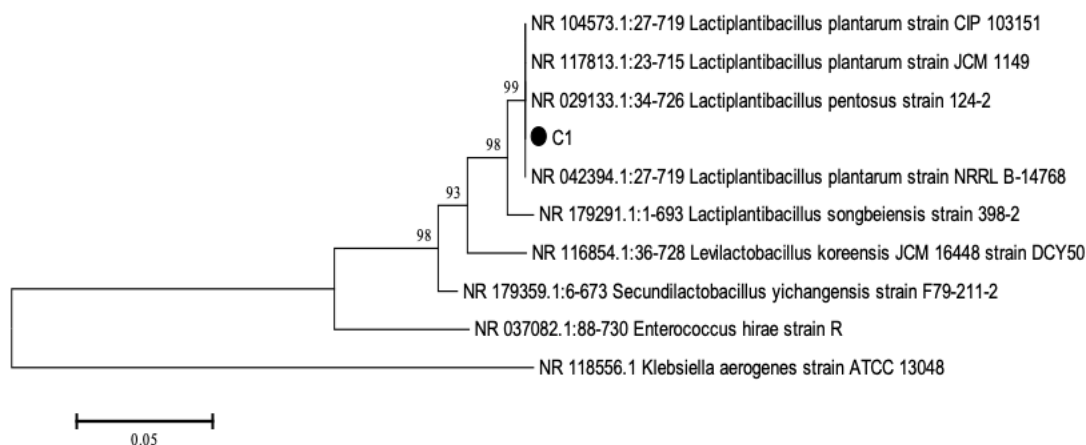
Strain designation	Isolates under oil immersion, 10×100 magnification	Gram reaction	Catalase	Colony morphology	Species name
LAB-1		Gram-positive	Negative	White, convex, 2–3 mm in diameter. Caused milk coagulation. 3×10^7 CFU / mL.	<i>Lactiplantibacillus</i> sp.
LAB-2		Gram-positive	Negative	White, small, 1 mm in diameter. Caused milk coagulation. 1×10^7 CFU / mL.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
LAB-3		Gram-positive	Negative	Beige to translucent, pinpoint. Caused milk coagulation. 7×10^7 CFU / mL	<i>Streptococcus thermophilus</i>

All isolated strains were capable of fermenting milk, with viable cell counts ranging from 1×10^7 to 7×10^7 CFU/mL.

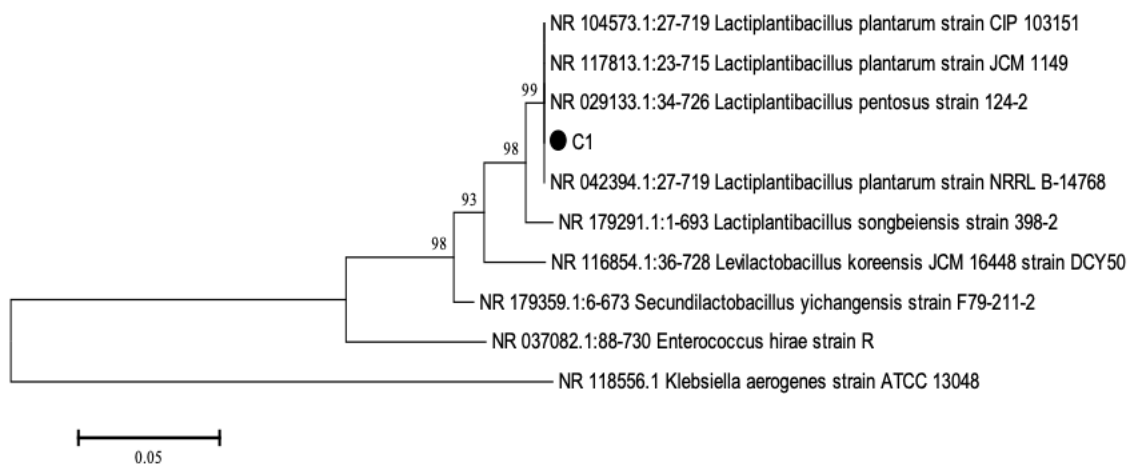
The results of the acidifying ability assessment are presented in Table 2. All strains demonstrated a significant decrease in pH and an increase in titratable acidity over 48 incubation in cow milk.

The taxonomic classification of the isolated lactic acid bacteria was confirmed using a molecular genetic method based on the analysis of 16S rRNA gene nucleotide sequences. For isolate C1, comparative analysis of the 16S rRNA gene sequence revealed 100.00% homology with representatives of the genus *Lactiplantibacillus* sp. Isolate C2 was identified as *Leuconostoc mesenteroides*. Comparative analysis of the 16S rRNA gene nucleotide sequence revealed 100.00% similarity with the reference strain *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 8293 (NR_074957.1). For isolate C3F, analysis of the 16S rRNA gene sequence showed the highest similarity to the reference strain *Streptococcus thermophilus* DSM 20617 (NR_118998.1). The homology level was 99.31%.

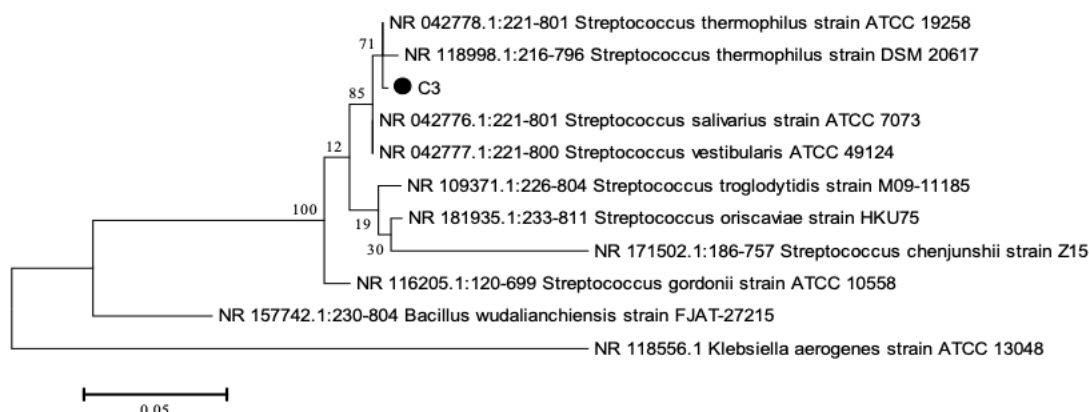
Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences confirmed the taxonomic position of the isolates (Figure 3).



C1 - The degree of homology with the closest *Lactiplantibacillus* sp. strains was 100.00%.



C2 - The degree of homology with the closest strain, NR 074957.1:63-798 *Leuconostoc mesenteroides* strain ATCC 8293, was 100.00%.



C3 - The degree of homology with the closest relative, *Streptococcus thermophilus* strain DSM 20617 (NR 118998.1:216-796), was 99.31%.

Figure 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences

Phylogenetic analysis revealed that isolates C1, C2, and C3 clustered within distinct and well-supported clades corresponding to the genera *Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc*, and *Streptococcus*, respectively. The constructed phylogenetic tree confirmed their taxonomic placement and demonstrated clear separation from related reference strains, with bootstrap support values indicating reliable clustering.

Table 2
Acidifying ability of the strains during cultivation in growth medium

No.	Isolates	pH			Titratable acidity (°T)		
		0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
1	<i>Lactiplantibacillus sp.</i>	5.10±0.05	4.40±0.04	4.00±0.03	58.00±0.05	70.00±0.50	85.00±0.50
2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	4.91±0.06	4.20±0.05	3.90±0.04	67.00±0.05	80.00±0.60	100.00±0.50
3	<i>Streptococcus thermophilus</i>	4.83±0.04	4.10±0.03	3.90±0.03	91.00±0.04	105.00±0.90	120.00±0.50

Lactiplantibacillus sp. decreased the pH from 5.10 ± 0.05 to 4.00 ± 0.03 , accompanied by an increase in titratable acidity from 58.00 ± 0.05 to 85.00 ± 0.50 °T. *Leuconostoc mesenteroides* reached a final pH of 3.90 ± 0.04 with a titratable acidity of 100.00 ± 0.50 °T. The highest acidifying ability was observed in *Streptococcus thermophilus*, which after 48 hours exhibited a pH of 3.90 ± 0.03 and titratable acidity of 120.00 ± 0.50 °T.

The results of the inhibitory activity of cell-free supernatants of lactic acid bacteria are presented in Table 3 and Figure 4.

Table 3

**Inhibition zones (mm) produced by cell-free supernatants of LAB isolates
(agar well diffusion assay)**

No.	Isolates	<i>Salmonella enteritidis</i> NT, mm	<i>Staphylococcus aureus</i> 16, mm	<i>Escherichia coli</i> NT, mm
1	<i>Lactiplantibacillus</i> sp.	21.0±2.0	<1	<1
2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	17.3±0.7	<1	<1
3	<i>Streptococcus thermophilus</i>	20.5±0.5	<1	<1

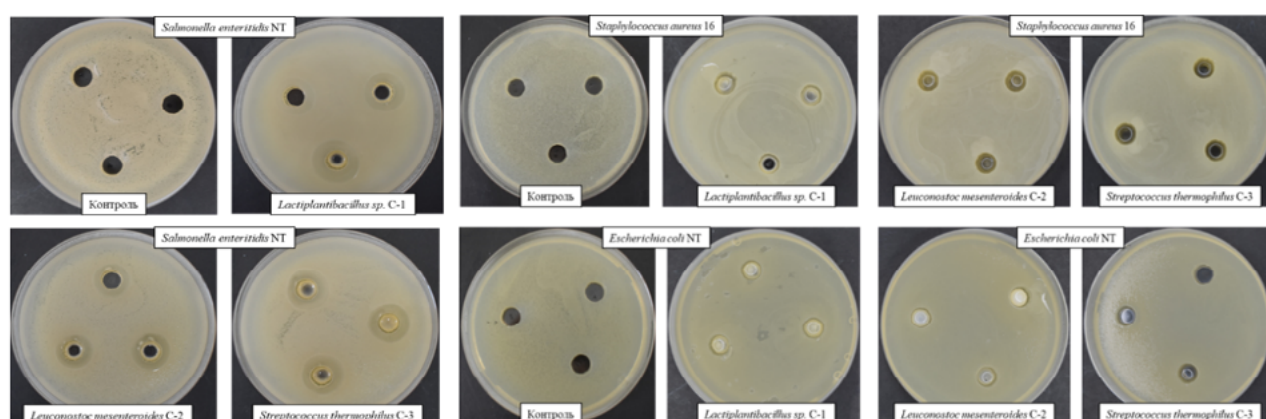


Figure 4. Inhibition zones produced by cell-free supernatants of isolated lactic acid bacteria against indicator test cultures using agar well diffusion assay.

All tested cell-free supernatants showed inhibitory activity against *Salmonella enteritidis* NT, with inhibition zones ranging from 17 to 21 mm depending on the isolate. No consistent inhibition was observed against *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* under the experimental conditions used.

No further interpretation regarding the mechanism of inhibition can be made in the absence of neutralized, heat-treated, or enzyme-treated supernatant controls; therefore, the observed effects are reported strictly as inhibitory activity of crude culture supernatants.

Discussion

The results of this study confirm the dominance of lactic acid bacteria (LAB) in the microbial community of camel milk cheese, in agreement with current concepts of spontaneous fermentation in traditional dairy products. Previous metagenomic and culture-dependent studies have reported the frequent occurrence of LAB belonging to the genera *Lactiplantibacillus* sp., *Leuconostoc mesenteroides*, and *Streptococcus thermophilus* in fermented dairy matrices, including camel milk and other animal-derived products [15, 16]. These findings align with previous reports identifying these species as dominant members of LAB communities during dairy fermentation [17, 18].

It should be noted that the diversity of LAB in camel milk products is highly variable and depends on geographic origin, raw material quality, and fermentation conditions. In addition to the dominant genera identified in this study, other LAB such as *Lentilactobacillus kefiri*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, and *Bifidobacterium* spp. have been reported in fermented camel milk products (shubat), highlighting the complexity of these microbial ecosystems [19]. This emphasizes the need for in-depth strain-level and molecular approaches for comprehensive characterization of camel milk microbiota.[20].

L. plantarum displayed high adaptability to non-standard dairy matrices and contributed to flavor and texture development through proteolytic and aroma-forming activities [21, 22]. In the present study, all isolates demonstrated acidification ability in a MRS broth. The observed increase in titratable acidity from $58 \pm 0.05^{\circ}\text{T}$ to $85 \pm 0.5^{\circ}\text{T}$ over 48 h, which is comparable to reported values ($\sim 75\text{-}90^{\circ}\text{T}$) in milk fermented with *L. plantarum* and related LAB, reflecting efficient lactose metabolism and acid production [23,24]. This proteolytic activity supports the generation of bioactive peptides, including potential ACE-inhibitory compounds, indicating the functional food potential of camel milk cheeses [25, 26]. However, due to the use of cow milk as a model substrate, direct extrapolation of these results to camel milk fermentation systems is not possible.

The acidifying capacity of *S. thermophilus* (final pH 3.9 ± 0.03 and titratable acidity $120 \pm 0.5^{\circ}\text{T}$ after 48 h) is consistent with previous studies reporting pH values of 4.2-4.6 and titratable acidity between 77 and 104°T within 24 h of fermentation in similar dairy systems [17,27]. These results demonstrate robust metabolic activity of *S. thermophilus* in camel milk, despite the inhibitory components present in this matrix.

The roles of *L. mesenteroides* and *L. plantarum* as adjunct cultures enhancing flavor and bioactive compound formation are well documented. These species contribute to diacetyl, organic acid, and volatile metabolite production [19,25]. However, functional profiles vary considerably between strains, affecting flavor metabolite synthesis, exopolysaccharide production, and anti-oxidant capacity [19].

All LAB isolates inhibited *Salmonella enteritidis*, forming growth inhibition zones of 17–23 mm, comparable to previously reported ranges of 7-22 mm in LAB from camel milk [28]. In contrast, no inhibition was observed against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, reflecting strain- and species-specific antimicrobial properties and medium-dependent effects, as reported in prior studies [21,23,28]. The antimicrobial activity of LAB is generally associated with the production of organic acids, hydrogen peroxide, bacteriocins, and other antimicrobial metabolites, although the contribution of individual factors varies among strains and target microorganisms [17,27]. Since neutralized, heat-treated, and enzyme-treated supernatants were not included in the present study, the observed inhibitory activity cannot be attributed to any specific antimicrobial mechanism or metabolite. The selective inhibition pattern observed may reflect differences in the susceptibility of the indicator microorganisms as well as the physico-chemical properties of crude culture supernatants and the limitations of agar diffusion assays.

Recent research also emphasizes that functional properties of LAB – including antioxidant activity, stress tolerance, and probiotic potential – differ significantly among strains, which is crucial when selecting starter cultures for targeted technological and functional traits in fermented products [17,19]. Overall, these findings support the use of autochthonous LAB for developing starter cultures adapted to the protein composition and physicochemical properties of camel milk [29]. Industrial applications should involve further strain-level characterization, including evaluation of probiotic properties, bacteriocin production, and bioactive peptide synthesis, to ensure product safety and fermentation stability [23,25,30].

Conclusion

In this study, autochthonous isolates of lactic acid bacteria were isolated and characterized from cheese produced from camel milk. Based on 16S rRNA gene sequence analysis, the *Lactiplantibacillus* sp., *Leuconostoc mesenteroides*, and *Streptococcus thermophilus*. All strains demonstrated the ability to coagulate milk and exhibited pronounced acidification activity, with *S. thermophilus* showing the highest acidification capacity under the conditions tested. In addition, the cell-free culture supernatants inhibited the growth of *Salmonella enteritidis*, while no inhibitory activity was detected against *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli*.

The obtained results indicate that the isolated autochthonous LAB possess technological properties relevant to dairy fermentation and are promising candidates for the future development of specialized starter cultures for traditional and artisanal camel milk cheese production. Nevertheless, further investigations, including comprehensive safety assessment, detailed technological characterization, and validation in camel milk fermentation systems, are necessary before their industrial application.

Author Contributions

G.E.A., A.Zh., U.A.A. – conceptualization; G.E.A., A.Zh.A. – data curation; G.E.A., U.A.A., A.A.A. – formal analysis; G.E.A. – writing-original draft preparation; G.E.A., U.A.A. – writing-review & editing; G.E.A., U.A.A. – supervision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant number AP26199549).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards

This article does not contain a description of studies performed by the authors involving people or using animals as objects.

References

1. Khaliq A, Mishra AK, Niroula A, et al. An updated comprehensive review of camel milk: Composition, therapeutic properties, and industrial applications. Food Biosci. 2024;62:105531. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105531>
2. Mbye M, Ayyash M, Abu-Jdayil B, et al. The texture of camel milk cheese: Effects of milk composition, coagulants, and processing conditions. Front Nutr. 2022;9:868320. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.868320>
3. Gabrilyants EA, Utebaeva AA, Alibekov RS. Influence of different factors on the curdling of camel milk from the Turkestan region. Bull Shakarim Univ Tech Sci. 2025;2(18):276-282. [https://doi.org/10.53360/2788-7995-2025-2\(18\)-33](https://doi.org/10.53360/2788-7995-2025-2(18)-33)
4. Konuspayeva G, Camier B, Gaucheron F, et al. Some parameters to process camel milk into cheese. Emir J Food Agric. 2014;26(4).

5. Alhejaili M, Farrag E, Mahmoud S, et al. Isolation of lactic acid bacteria from raw camel milk in Saudi Arabia and evaluation of their probiotic potential. *Microbiol Res.* 2025;16(12):248. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16120248>
6. Akhmetsadykova SH, Baubekova A, Konuspayeva G, et al. Lactic acid bacteria biodiversity in raw and fermented camel milk. *Afr J Food Sci Technol.* 2015;6(3):84-88.
7. Alhaj OA, Faye B, Agrawal RP. Microbial aspect of lactic acid bacteria isolated from camel milk. In: *Handbook of Research on Health and Environmental Benefits of Camel Products.* Hershey (PA): IGI Global; 2019. p. 1-22.
8. Bilal Z, Akhmetsadykova S, Baubekova A, et al. The main features and microbiota diversity of fermented camel milk. *Foods.* 2024;13:1985. <https://doi.org/10.3390/foods13131985>
9. Coelho MC, Malcata FX, Silva CCG. Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. *Foods.* 2022;11(15):2276. <https://doi.org/10.3390/foods11152276>
10. Mayo B, Rodríguez J, Vázquez L, et al. Microbial interactions within the cheese ecosystem and their application to improve quality and safety. *Foods.* 2021;10(3):602. <https://doi.org/10.3390/foods10030602>
11. Konuspayeva G, Faye B. Recent advances in camel milk processing. *Animals.* 2021;11(4):1045. <https://doi.org/10.3390/ani11041045>
12. Rahmeh R, Akbar A, Alomirah H, et al. Camel milk microbiota: A culture-independent assessment. *Food Res Int.* 2022;159:111629. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111629>
13. Mbye M, Ayyash M, Abu-Jdayil B, et al. Technological challenges in production of camel milk cheese and ways to overcome them – A review. *Int Dairy J.* 2022;129:105344. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105344>
14. Gabrilyants E, Alibekov R, Tarapoulouzi M, et al. The effect of starter cultures on peptide profiles identified in camel milk cheese. *Qual Assur Saf Crops Foods.* 2025;17(4):217-29. <https://doi.org/10.15586/qas.v17i4.1580>
15. Zhong Z, Hou Q, Kwok L, et al. Bacterial microbiota compositions of naturally fermented milk are shaped by both geographic origin and sample type. *J Dairy Sci.* 2016;99(10):7832-41. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10825>
16. Nagyzbekkyzy E, Sembayeva D, Sarsenova A, et al. Data on the diversity of lactic acid bacteria isolated from raw and fermented camel milk. *Data Brief.* 2020;31:105956. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105956>
17. Mokhtari HAER, Hassaine O, Çetin B, et al. Probiotic potential, safety assessment, and functional properties of lactic acid bacteria from camel milk. *Enzyme Microb Technol.* 2025;189:110676. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2025.110676>
18. Bellassi P, Rocchetti G, Nocetti M, et al. A combined metabolomic and metagenomic approach to discriminate raw milk for the production of hard cheese. *Foods.* 2021;10(1):109. <https://doi.org/10.3390/foods10010109>
19. Lu X, Zhang B, Zhao M, et al. Isolation and functional characterization of *Leuconostoc mesenteroides* from camel milk with application in antioxidant-enhanced yogurt fermentation. *J Dairy Sci.* 2026;S0022-0302(26)00004-4. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-27359>
20. Berhe T, Ipsen R, Seifu E, et al. Metagenomic analysis of bacterial community composition in Dhanaan: Ethiopian traditional fermented camel milk. *FEMS Microbiol Lett.* 2019;366(11):fnz128. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz128>
21. Edalati E, Saneei B, Alizadeh M, et al. Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning. *New Microbes New Infect.* 2019;27:64-68. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.11.008>

22. Pogačić T, Maillard MB, Leclerc A, et al. A methodological approach to screen diverse cheese-related bacteria for their ability to produce aroma compounds. *Food Microbiol.* 2015;46:145-53. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.018>
23. Latreche B, Bendjama E, Loucif L, et al. Unveiling the potential of lactic acid bacteria from Algerian dromedary camel milk: diversity, technological applications, and antimicrobial insights. *Front Nutr.* 2025;12:1647344. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1647344>
24. Rahmeh R, Akbar A, Kishk M, et al. Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes New Infect.* 2019;30:100560. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100560>
25. Chelladhurai K, Warakaulle S, Ali SN, et al. Differences in the growth, acidification, and proteolytic activities of *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* in camel and cow milk fermentation. *Int Dairy J.* 2025;160:106075. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106075>
26. Ibrahim HR, Isono H, Miyata T. Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. *Anim Nutr.* 2018;4(3):273-80. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.05.004>
27. Ren D, Zhu J, Gong S, et al. Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. *Biomed Res Int.* 2018;2018:5416725. <https://doi.org/10.1155/2018/5416725>
28. Sharma A, Lavania M, Singh R, et al. Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi J Biol Sci.* 2021;28(3):1622-32. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.062>
29. Abduku H, Eshetu M. Physico-chemical properties and processing characteristics of camel milk as compared with other dairy species: A review. *Asian J Dairy Food Res.* 2024;43(1):1-7. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.DRF-303>
30. Kamarinou CS, Papadopoulou OS, Doulgeraki AI, et al. Mapping the key technological and functional characteristics of indigenous lactic acid bacteria isolated from Greek traditional dairy products. *Microorganisms.* 2022;10(2):246. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020246>

**Түйе сүтінен жасалған ірімшіктен автохтонды сүтқышқылды
бактерияларды бөліп алу және оларды арнайы ашытқы дақылдарын
әзірлеуде қолдану мүмкіндіктерін сипаттау**

А. А. Утебаева¹, Е. А. Габрилянц^{*2}, Ж. Ә. Әбіш³, Ә. Ә. Әбләш⁴

^{1,2,3,4} «М.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті»
КеАҚ, Шымкент қ., Қазақстан

Аңдатпа. Түйе сүті өзінің жоғары тағамдық құндылығына байланысты ірімшік өндіруге перспективалы шикізат болып табылады. Алайда оны өңдеу сүтқышқылдық реакцияның баяу жүрісі мен ерекше ақуыз құрамымен шектеледі, бұл сиыр сүтіне арналған дәстүрлі ашытқы дақылдарының тиімділігін төмендетеді. Осы зерттеудің мақсаты – түйе сүтінен жасалған ірімшіктен автохтонды сүтқышқылды бактерияларды (СҚБ) бөліп алу және оларды арнайы ашытқы дақылдарында қолдану үшін технологиялық әлеуетін бағалау болды. Микроорганизмдерді селективті ортада өсіру арқылы бөліп алып, кейін тазарту жүргізілді, бастапқы идентификация морфологиялық, Грам бойынша бояу және культуралық сипаттамаларға негізделді. Қышқылдық қабілет рН төмендеуі және титрленетін қышқылдық арқылы бағаланды, ал антагонистік белсенділік тест-дақылдарға қатысты

анықталды. Үш СҚБ штаммы бөлініп, олар *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* және *Streptococcus thermophilus* ретінде анықталды. Барлық изоляттар грампозитивті болып, 48 сағаттық инкубация барысында айқын қышқыл түзуші белсенділік көрсетті. *Streptococcus thermophilus* ең жоғары ферментативті белсенділікке ие болып, рН мәні 3,9 және титрленетін қышқылдық 120°Т жетті. *Salmonella enteritidis*-ке қатысты селективті антагонистік әсерлер анықталды, ал *Staphylococcus aureus* және *Escherichia coli*-ге қарсы ингибирлеуші белсенділік байқалған жоқ. Алынған нәтижелер түйе сүтіне бейімделген автохтонды сүтқышқылды бактериялардың елеулі технологиялық әлеуетке ие екенін және оларды түйе сүті ірімшігін өндіру үшін аймақтық бағытталған ашытқы дақылдарын әзірлеуде перспективалы кандидат ретінде қарастыруға болатынын көрсетеді.

Түйін сөздер: түйе сүтінен жасалған ірімшік, сүтқышқылды бактериялар, автохтонды штаммдар, морфология, антагонистік қасиеттер

Выделение и характеристика автохтонных молочнокислых бактерий из сыра из верблюжьего молока для разработки заквасочных культур

А. А. Утебаева¹, Е. А. Габрилянц^{*2}, Ж. А. Абиш³, А. А. Аблаш⁴

^{1,2,3,4} НАО «Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова»,
г. Шымкент, Казахстан

Аннотация. Верблюжье молоко представляет собой перспективное сырьё для сыроделия благодаря высокой пищевой ценности; однако его переработка ограничивается замедленной кинетикой кислотообразования и специфическим белковым составом, что снижает эффективность традиционных заквасочных культур, разработанных для коровьего молока. Целью настоящего исследования являлось выделение автохтонных молочнокислых бактерий (МКБ) из сыра из верблюжьего молока и оценка их технологического потенциала для применения в специализированных заквасочных культурах. Микроорганизмы выделяли путём культивирования на селективных средах с последующей очисткой, предварительную идентификацию проводили на основе морфологических, грам-окрашивающих и культуральных характеристик. Кислотообразующую способность оценивали по снижению рН и титруемой кислотности, антагонистическую активность – по отношению к тест-культурам. Были выделены три штамма МКБ, идентифицированные как *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* и *Streptococcus thermophilus*. Все изоляты являлись грамположительными и проявляли выраженную кислотообразующую активность в течение 48 ч инкубации. *Streptococcus thermophilus* характеризовался наибольшей ферментативной активностью, достигая значения рН 3,9 и титруемой кислотности 120°Т. Отмечены селективные антагонистические эффекты в отношении *Salmonella enteritidis*, при этом ингибирующая активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* не выявлена. Полученные результаты свидетельствуют о том, что автохтонные молочнокислые бактерии, адаптированные к верблюжьему молоку, обладают значительным технологическим потенциалом и могут рассматриваться как перспективные кандидаты для разработки регионально ориентированных заквасочных культур для производства сыра из верблюжьего молока.

Ключевые слова: сыр из верблюжьего молока, молочнокислые бактерии, автохтонные штаммы, морфология, антагонистические свойства

Сведения об авторах:

Утебаева Айдана – доктор философии (PhD), старший преподаватель кафедры Технология и безопасность пищевых продуктов, Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова, пр. Тауке Хана, 5, г. Шымкент, 160012, Казахстан.

Габрилянц Элеонора – автор-корреспондент, PhD докторант кафедры биотехнологии, Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова, пр. Тауке Хана, 5, г. Шымкент, 160012, Казахстан.

Абиш Жансая – PhD докторант кафедры технологии и безопасности пищевых продуктов, Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова, пр. Тауке Хана, 5, г. Шымкент, 160012, Казахстан.

Аблаш Айгерим – PhD докторант кафедры технологии и безопасности пищевых продуктов, Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова, пр. Тауке Хана, 5, г. Шымкент, 160012, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Утебаева Айдана – PhD, М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, тамақ өнімдердің технологиясы және қауіпсіздігі кафедрасының аға оқытушысы, Тәуке Хан даңғылы, 5, Шымкент, 160012, Қазақстан.

Габрилянц Элеонора – хат-хабар авторы, М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, биотехнология кафедрасының PhD докторанты, Тәуке Хан даңғылы, 5, Шымкент, 160012, Қазақстан.

Әбиш Жансая – М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, тамақ өнімдердің технологиясы және қауіпсіздігі кафедрасының PhD докторанты, Тәуке Хан даңғылы, 5, Шымкент, 160012, Қазақстан.

Әблаш Әйгерім – М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, тамақ өнімдердің технологиясы және қауіпсіздігі кафедрасының PhD докторанты, Тәуке Хан даңғылы, 5, Шымкент, 160012, Қазақстан.

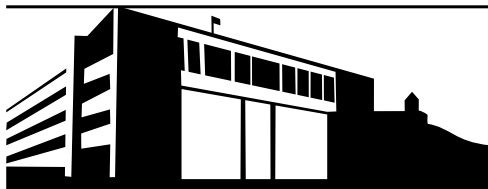
Authors' information:

Utebaeva Aidana – PhD, Senior lecturer, Mukhtar Auezov South Kazakhstan University, Department of Technology and Food Safety, Tauke Khan Ave., 5, Shymkent, 160012, Kazakhstan.

Gabrilyants Eleonora – corresponding author, PhD student, Mukhtar Auezov South Kazakhstan University, Department of Biotechnology, Tauke Khan ave., 5, Shymkent, 160012, Kazakhstan.

Abish Zhansaya – PhD student, Mukhtar Auezov South Kazakhstan University, Department of Technology and Food Safety, Tauke Khan Ave., 5, Shymkent, 160012, Kazakhstan.

Ablash Aigerim – PhD student, Mukhtar Auezov South Kazakhstan University, Department of Technology and Food Safety, Tauke Khan Ave., 5, Shymkent, 160012, Kazakhstan.



SRSTI 34.01.01
Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-163-175>

Screening of medicinal plants in the Ulytau region and their general characteristics

A.A. Sharip*¹ , S.A. Abiyev² , G.T. Sitpayeva³ , B.B. Osmonali⁴

^{1,2}L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

^{3,4}Institute of Botany and Phytointroduction, Almaty, Kazakhstan

E-mail: ¹aizat.sharip0170201@gmail.com, ²abiev.sardarbek@yandex.kz,
³sitpaeva@mail.ru, ⁴be96ka_kz@mail.ru

Abstract. The article presents a screening of medicinal plants in the Ulytau region (Central Kazakhstan) and an analysis of their botanical and ecological characteristics. Field studies conducted in 2024–2025 in the Zhanaarka and Ulytau districts identified 502 species belonging to 315 genera and more than 40 families of higher vascular plants. The highest species diversity was recorded in the families *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae*, and *Campanulaceae*. Analysis of life forms revealed the predominance of perennial herbaceous plants (65–70%), indicating the adaptive capacity of the flora under sharply continental climatic conditions. Annual and biennial species accounted for approximately 15% and 8–10% of the flora, respectively, whereas shrubs, trees, and vines were considerably less represented. The analysis of medicinal plant applications showed that about 400 species are used in folk medicine, around 180 species in official medicine, and from 10 to 120 species in Eastern medicine, experimental medicine, veterinary medicine, Western medicine, and homeopathy. The results confirm the high taxonomic and ecological significance of the medicinal flora of the Ulytau region and demonstrate its potential as a source of biologically active compounds for pharmacology and medicine.

Keywords: medicinal plants, flora of the Ulytau region, taxonomic diversity, life forms, traditional medicine, biologically active compounds, Central Kazakhstan

Introduction

Medicinal plant research has become an important field of botanical science in Kazakhstan. Medicinal plants have been widely used since ancient times as sources of essential oils, alkaloids, tannins, flavonoids, and other biologically active compounds. Historical records indicate that numerous plant species were traditionally applied in Turkic folk medicine for the treatment of

Received: 6.02.2026. Accepted: 23.06.2026. Available online: 30.06.2026

*Corresponding author

various diseases. At present, medicinal plants continue to play a significant role in folk and official medicine, and their pharmacological properties have been extensively described in scientific literature [1].

Currently, various species of medicinal plants are widely used in folk, official, Eastern, and veterinary medicine. Species of the genera *Ziziphora*, *Artemisia*, *Mentha × piperita* L., and *Allium* are traditionally used in the treatment of cardiovascular diseases, inflammatory processes, and bacterial infections [2–5]. Approximately 30 species of medicinal plants have also been reported for the treatment of skin diseases in traditional medicine [6]. In addition, medicinal plants are extensively applied in phytotherapy and Eastern medicinal practices [7]. Many species possess pharmacologically active compounds that are used not only in human medicine but also in veterinary practice and animal husbandry [8].

Recent studies in Kazakhstan have focused on the taxonomic diversity, biological activity, and resource potential of medicinal plants belonging to the leading plant families [9,10]. Considerable attention has also been devoted to the assessment of wild medicinal plant resources and their practical significance [11]. According to current floristic data, the flora of Kazakhstan includes more than 6,000 species of higher vascular plants, of which approximately 1,406 species are classified as medicinal plants. Information on their taxonomy, ecology, and geographical distribution across floristic regions has been widely reported in botanical studies [12]. In addition, investigations of the flora and plant resources of Central Asia indicate the presence of more than 2,000 medicinal plant species in the region [13].

The study area covers the territory of the Ulytau district with a total area of 12,293,105 hectares. The climate of the Ulytau region is sharply continental and arid, with pronounced seasonal temperature fluctuations. Snow cover generally varies between 12 and 20 cm, increasing from the southern to the northern parts of the region. In some locations, snow depth may reach 40 cm, and soils freeze to depths of up to 2 m during winter.

The winter period in the Ulytau region is characterized by frequent blizzards and snowdrifts caused by extensive open plains. Spring is marked by a rapid transition from low winter temperatures to warmer climatic conditions. During the summer season, prolonged droughts accompanied by strong winds and dust storms intensify moisture evaporation and contribute to soil degradation processes. These environmental conditions negatively affect vegetation communities and promote the development of adaptive mechanisms in the regional flora under arid climatic conditions [14,15].

The ecological conditions of the Ulytau region are characterized by arid climate, drought processes, soil degradation, and anthropogenic environmental impacts. According to available environmental data, atmospheric pollution and contamination of water bodies and topsoil by heavy metals have been recorded in several areas of the region. These factors negatively affect ecologically significant plant communities and natural vegetation resources. In addition, the flora of the Ulytau region includes a number of rare and protected species listed in the Red Book of Kazakhstan that require special conservation measures [16].

The Ulytau region is located in Central Kazakhstan and occupies an area of approximately 42,000 km². The territory includes diverse natural landscapes, including steppe plains, foothill ecosystems, and semi-desert zones. Such environmental heterogeneity contributes to the formation of stable ecosystems and supports considerable biological diversity adapted to arid continental environments.

Wild tulips represent rare endemic plant species and are considered one of the natural symbols of the Ulytau region. These species serve not only as important components of regional biodiversity but also as indicators of the ecological condition of natural ecosystems. The fau-

na of the Ulytau region is highly diverse and includes numerous species typical of steppe and semi-desert ecosystems.

The steppes of the Ulytau region provide habitat for the saiga antelope (*Saiga tatarica*), a species included in the Red Book of Kazakhstan. The region is also an important breeding area for the steppe eagle (*Aquila nipalensis*), which regularly nests within the territory during the reproductive season. Small mammals, including jerboas, hedgehogs, and ground squirrels, are widespread, together with numerous reptile and insect species typical of steppe and semi-desert landscapes. The observed species diversity emphasizes the ecological importance of the Ulytau region as one of the key natural areas of Central Kazakhstan.

The natural heritage of the region possesses not only ecological but also cultural and historical value. In recent years, increased attention has been devoted to the conservation of rare plant and animal species and to the restoration of degraded ecosystems. Environmental protection measures and ecological monitoring programs are aimed at preserving the biological diversity and ensuring the sustainable development of the Ulytau region for future generations [17,18].

The present study is regional in scope and focuses on medicinal plant species distributed within the Ulytau region. In 2024–2025, targeted expeditionary surveys were conducted in the Zhanaarka and Ulytau districts of Central Kazakhstan within the framework of the program “Creation of the Plant Cadastre of the Ulytau Region” aimed at implementing the objectives of the Law of the Republic of Kazakhstan “On the Plant World” and ensuring the sustainable use of regional botanical resources. The main objective of the research was to investigate the taxonomic diversity and distribution of medicinal plant species in the study area.

Materials and research methods

The Ulytau Mountains are situated within the semi-desert zone of Central Kazakhstan. The region is characterized by low annual precipitation, intense solar radiation, and high evaporation during the summer months, resulting in limited soil moisture. These climatic conditions influence the composition of vegetation communities and the development of local soils.

Northeastern winds dominate throughout the year and contribute to the redistribution of snow cover during winter. Snow accumulates mainly in depressions and valleys, whereas open areas remain relatively snow-free. During spring snowmelt, a considerable part of the water drains into river systems, reducing moisture retention in the soil. In summer, strong winds increase evaporation and enhance soil drying.

Vegetation patterns in the Ulytau region are determined by topography, soil conditions, and moisture availability. The region belongs to the western part of the Central Kazakhstan low-mountain province and is dominated by desertified steppe communities with wormwood-grass vegetation, rocky outcrops, ravines, and gullies [19]. Elevations in the western part of the territory range from 300 to 1135 m above sea level.

The soils of the Ulytau region are represented mainly by light chestnut soil types with varying mechanical composition. Rocky and stony soils associated with eluvial deposits are common in mountainous areas, while sandy loam and loam soils are characteristic of river terraces, plains, and foothill zones. Saline and carbonate soils, including solonchaks, are also widely distributed throughout the region and are typical of the arid landscapes of Central Kazakhstan.

The medicinal flora of Kazakhstan comprises approximately 1,406 species belonging to 134 plant families [20]. Field surveys carried out in 2024–2025 covered the main parts of the Ulytau region, including Betpakdala, the Zhanaarka district, and the Ulytau mountain system. During the study, 502 medicinal plant species representing 315 genera were recorded.

The collected data included information on taxonomic composition at the family, genus, and species levels, as well as analyses of life forms, including perennial and annual herbaceous plants, shrubs, trees, and vines. Ecological characteristics and the presence of biologically active compounds, such as alkaloids, flavonoids, vitamins, essential oils, terpenoids, and saponins, were also considered. Information on the medicinal use of species in folk, official, Eastern, and veterinary medicine was analyzed using published sources, including the Annotated List of Medicinal Plants of Kazakhstan, Flora of Ulytau, and Flora of Greater Ulytau [21–23].

Field surveys were carried out from May to July during the active vegetation period in steppe, foothill, and semi-desert ecosystems of the Ulytau region. Plant identification was performed using morphological characteristics and regional floristic guides, with additional verification based on herbarium collections when necessary. Herbarium specimens were collected, and geographic coordinates of species occurrences were recorded during field observations.

Results

A comparative assessment of medicinal plant species and genera distributed within the natural ecosystems of the Ulytau region was carried out based on their distribution patterns and ecological characteristics. Species were grouped according to the degree of their occurrence and abundance within the study area. The analysis considered the spatial distribution of species, their ecological adaptation, and their influence on vegetation communities and ecosystem structure. Plant taxa were classified into fourteen major groups, and their distribution frequency was evaluated using a scoring scale ranging from 1 to 30.

The scoring system reflected the frequency of species occurrence, population abundance, and ecological adaptability within the study area. Such an approach allowed the identification of species that are well adapted to the environmental conditions of the Ulytau region and play an important role in local vegetation communities. The research results presented in Figure 1 demonstrate the distribution of medicinal plants among more than 40 families of higher vascular plants identified in the region.

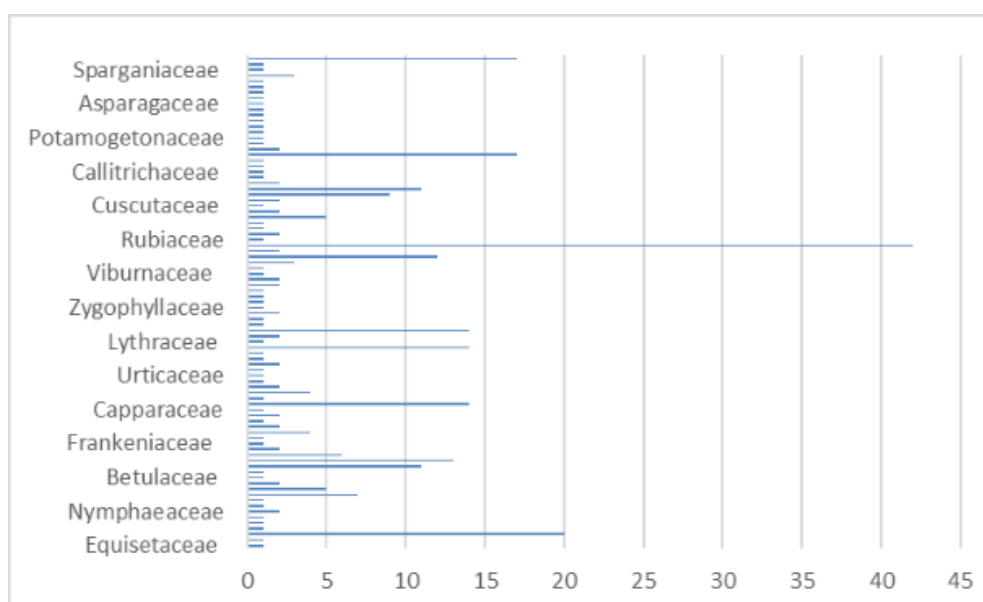


Figure 1. Taxonomic diversity of medicinal plants in the Ulytau region

Among the identified medicinal plant families, the greatest species richness was observed in *Campanulaceae* Juss., *Papaveraceae* Juss., *Fabaceae* Lindl., *Lamiaceae* Juss., *Asteraceae* Bercht. et J. Presl, and *Poaceae* Barnhart. *Campanulaceae* was represented by more than 120 species and constituted the largest family in the surveyed flora. Representatives of this family were widely distributed throughout the study area.

Other families, including *Papaveraceae*, *Caryophyllaceae*, *Brassicaceae*, and *Lamiaceae*, were represented by up to 40 species each. These families constitute an important component of the medicinal flora of the Ulytau region and include numerous species traditionally used for medicinal purposes due to the presence of biologically active compounds such as alkaloids, flavonoids, and saponins.

Families such as *Equisetaceae*, *Nymphaeaceae*, *Asphodelaceae*, and *Juncaceae* were represented by only a few species in the study area. Their limited occurrence is likely related to the arid climate and the dominance of steppe and semi-desert plant communities.

Overall, the medicinal flora of the Ulytau region is closely associated with steppe and semi-desert ecosystems. The recorded species diversity confirms the floristic richness of the region and provides a basis for further studies of its medicinal plant resources.

Analysis of life forms demonstrated the predominance of perennial herbaceous plants in the medicinal flora of the Ulytau region, as shown in Figure 2. Perennial species accounted for approximately 65–70% of the total recorded flora. Their dominance is associated with a high degree of adaptation to severe continental climate, including prolonged droughts and significant seasonal temperature fluctuations.

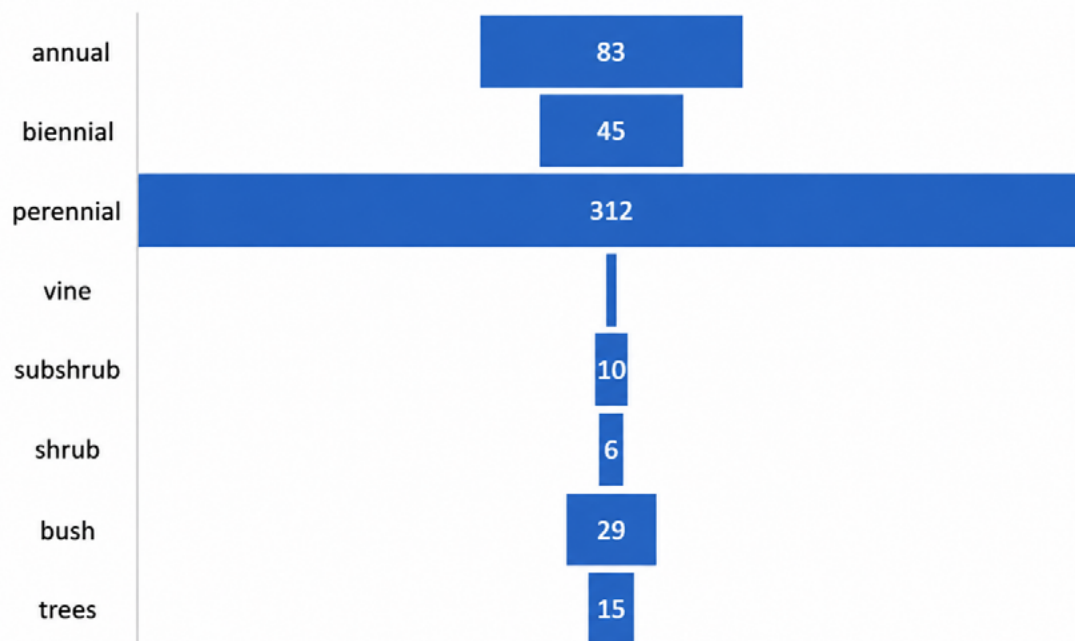


Figure 2. Life forms of medicinal plants in the Ulytau region

Annual plants represented the second largest group, comprising approximately 15% of the identified species. The relatively short life cycle of annual species allows them to successfully complete their development during the limited vegetation period characteristic of steppe and semi-desert ecosystems.

Biennial species accounted for approximately 8–10% of the medicinal flora and were mainly represented by members of the families *Asteraceae* and *Brassicaceae*. These species are characterized by adaptive responses to seasonal fluctuations in temperature and moisture conditions. Trees, shrubs, and semi-shrubs constituted approximately 3–5% of the recorded flora and were primarily distributed within arid habitats of the region. Vines were represented by only a few species due to the unfavorable environmental conditions of the dry steppe and semi-desert landscapes.

The predominance of perennial herbaceous plants indicates the long-term adaptation of the regional flora to continental climatic conditions characterized by hot summers, cold winters, and limited water availability. Such a life-form structure contributes to the ecological stability of vegetation communities under climatic stress conditions.

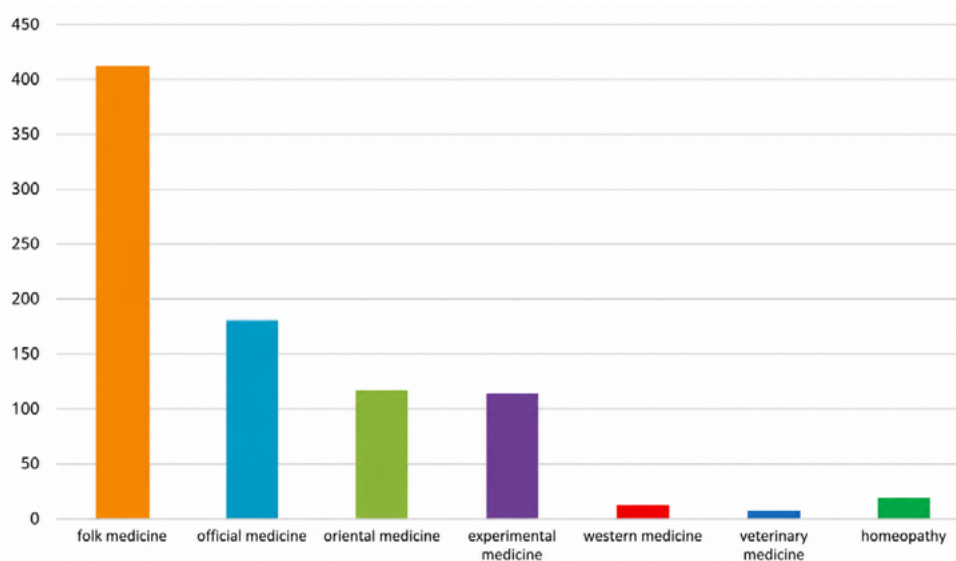


Figure 3. Medicinal plant applications in different medicinal practices

According to Figure 3, approximately 400 medicinal plant species recorded in the Ulytau region are used in folk medicine, representing the largest category of use. This category accounted for the majority of recorded medicinal plant uses in the region. The results suggest that folk medicine remains the principal area of application for medicinal plants in the region.

Official medicine represented the second largest category of medicinal plant application, including approximately 180 species. Approximately 110–120 species were reported in Eastern and experimental medicine, indicating that many medicinal plants of the Ulytau flora are used in different therapeutic traditions. The presence of species in several categories shows that the same medicinal plants are often used for different purposes and in different medicinal traditions.

Western medicine, veterinary medicine, and homeopathy were represented by fewer than 20 species in each category. This distribution indicates that the principal use of medicinal plants in the Ulytau region remains associated with folk and official medicinal practices.

The distribution of biologically active compounds identified in medicinal plants of the Ulytau region is presented in Figure 4. flavonoids, alkaloids, vitamins, tannins, and essential oils were among the most frequently recorded groups of compounds, whereas glycosides, mucilage, and triterpene saponins were represented by considerably fewer species. Flavonoids constituted the most abundant group, whereas glycosides, mucilage, and saponins were recorded less frequently.

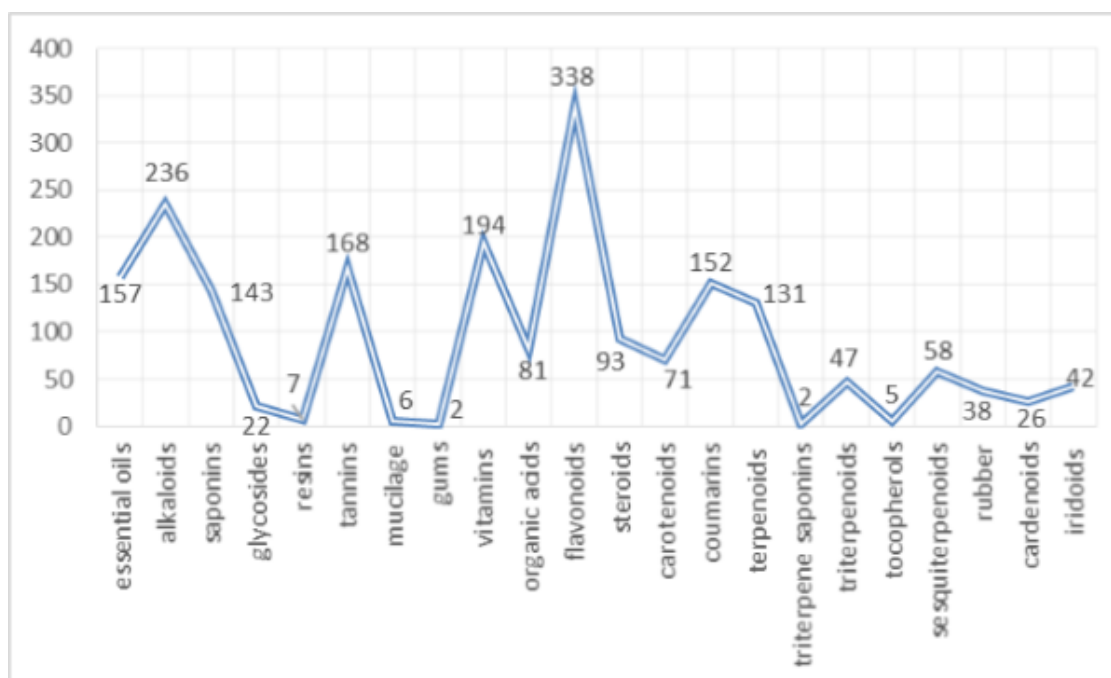


Figure 4. Distribution of biologically active compounds in medicinal plants

The results showed that medicinal plants of the Ulytau region are used in various medicinal practices, with folk medicine representing the largest category of application. Official, Eastern, and experimental medicine also include a substantial number of species, whereas considerably fewer plants are used in Western medicine, veterinary medicine, and homeopathy. These data indicate that medicinal plants of the Ulytau region have a wide range of documented applications in different medicinal practices.

Discussion

A total of 502 medicinal plant species belonging to more than 40 families were identified in the Ulytau region. The families *Campanulaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, and *Papaveraceae* contained the largest numbers of species. Similar patterns are typical of steppe and semi-desert floras of Central Kazakhstan.

The analysis of biologically active compounds showed that flavonoids, alkaloids, tannins, and essential oils were among the most frequently recorded groups in the medicinal plants of the Ulytau region. Similar groups of compounds have been reported for numerous medicinal species and are often associated with their pharmacological properties [24–26]. The obtained results indicate that many plant species occurring in the region may be of interest for further phytochemical studies.

Field surveys conducted in the Ulytau region demonstrated a high level of taxonomic diversity and a wide spectrum of plant life forms characteristic of the vegetation cover of Central Kazakhstan. The flora of the region is represented by heterogeneous steppe and semi-desert plant communities adapted to continental arid ecosystems. The obtained results are consistent with the studies of Kupriyanov et al. (2017) and the Flora of the Ulytau Mountains (2016), which report substantial floristic diversity and considerable medicinal plant resources within the region [27–29].

Comparative analysis of the medicinal flora of the Ulytau region with floristic inventories from other regions of Kazakhstan revealed significant similarities with the vegetation of dry and small-grass steppe ecosystems. At the same time, the flora of the Ulytau region is characterized by a relatively higher representation of the families *Campanulaceae*, *Lamiaceae*, and *Papaveraceae*, indicating the ecological specificity and floristic uniqueness of the regional vegetation cover [30].

The obtained results contribute to the expansion of current knowledge regarding the medicinal flora of Central Kazakhstan and demonstrate the significant scientific and practical potential of the region for further phytochemical and pharmacological studies. Future investigations should focus on the identification of biologically active compounds, assessment of pharmacological properties, and long-term ecological monitoring of medicinal plant populations under changing environmental conditions. These studies are essential for the conservation of botanical diversity and the sustainable use of medicinal plant resources.

Conclusion

A total of 502 medicinal plant species belonging to 315 genera and more than 40 families were recorded in the Ulytau region. The highest species richness was observed in *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae*, and *Campanulaceae*. The conducted survey of medicinal plants in the Ulytau region confirmed the considerable potential of the regional flora as a source of biologically active natural compounds. The screening revealed high taxonomic diversity, including representatives of more than 40 families of higher vascular plants. The greatest species richness was recorded in the families *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae*, and *Campanulaceae*. The predominance of these taxa reflects not only the floristic richness of the region but also the high adaptive capacity of local plant communities to sharply continental and arid environmental conditions.

The obtained results demonstrate the significant ecological, pharmacological, and practical importance of the medicinal flora of the Ulytau region. The identified plant resources may serve as promising sources of biologically active compounds for pharmaceutical, phytochemical, and biotechnological applications. Further investigations should focus on detailed phytochemical screening, evaluation of pharmacological activity, and long-term ecological monitoring of medicinal plant populations to ensure the conservation and sustainable use of regional biodiversity.

Author Contributions

Sh.A. – formal analysis, collecting information and writing; **S.A.** and **G.T.**– supervisor of the study, critically revising its content; **B.B.**– conceptualization.

Funding

This research was funded by the Ministry of Ecology and Natural Resources of the Republic of Kazakhstan (Grant No. BR23591088).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards

This article does not contain a description of studies performed by the authors involving people or using animals as objects.

References

1. Aidarbaeva DK, Sholpankulova GA, Shokanova ASH. Current state of populations of useful plants of Almaty region and ways of their balanced use. *Fundamental and Experimental Biology*. 2019;(2):105-112. <https://doi.org/10.31489/2019bmg2/105-112>
2. Šmejkal K, Malaník M, Zhaparkulova K, et al. Kazakh Ziziphora species as sources of bioactive substances. *Molecules*. 2016;21(7):826. <https://doi.org/10.3390/molecules21070826>
3. Nurlybekova A, Kudaibergen A, Kazymbetova A, et al. Traditional use, phytochemical profiles and pharmacological properties of Artemisia genus from Central Asia. *Molecules*. 2022;27(16):5128. <https://doi.org/10.3390/molecules27165128>
4. Mahendran G, Rahman LU. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on peppermint (*Mentha × piperita* L.): a review. *Phytother Res*. 2020;34(9):2088-2139. <https://doi.org/10.1002/ptr.6664>
5. Keusgen M, Fritsch RM, Hisoriev H, et al. Wild Allium species (Alliaceae) used in folk medicine of Tajikistan and Uzbekistan. *J Ethnopharmacol*. 2011;133(2):866-875. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.037>
6. Gras A, Parada M, Pellicer J, et al. Cancer and traditional plant knowledge, an interesting field to explore: data from the Catalan linguistic area. *Molecules*. 2022;27(13):4070. <https://doi.org/10.3390/molecules27134070>
7. Grudzinskaya L, Gemedzhieva N, Karzhaubekova Z, et al. Botanical coverage of the leading families of medicinal flora of Kazakhstan. *BIO Web Conf*. 2021;31:00007. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213100007>
8. Grudzinskaya LM, Gemedzhieva NG, Nelina NV, et al. Annotirovannyi spisok lekarstvennykh rasteniy Kazakhstana [Annotated list of medicinal plants of Kazakhstan]. Almaty: Institute of Botany and Phytointroduction; 2014. [in Russian]
9. Ishmuratova M, Matveev A, Ivlev V, et al. To the evaluation of raw materials of medicinal plants of Ulytau mountains (Karagandy region). *Bulletin of the Karaganda University. Biology. Medicine. Geography Series*. 2015;77(1):43-49. <https://doi.org/10.31489/2015bmg1/43-49>
10. Kairanbayeva N, Shadkam Z, Tuyakbayev OO. Medicinal plants in medieval treatises: medicinal properties, application, description. *Journal of Oriental Studies*. 2024;111(4):25-32. <https://doi.org/10.26577/JOS.2024.v111.i4.03>
11. Karamysheva ZV, Rachkovskaya EI. Botanicheskaya geografiya stepnoy chasti Tsentralnogo Kazakhstana [Botanical geography of the steppe part of Central Kazakhstan]. Moscow: Nauka; 1974. [in Russian]
12. Gemedzhieva NG, Grudzinskaya LM. Current state and prospects of research on the diversity of medicinal flora of Kazakhstan. In: Öztürk M, Egamberdieva D, editors. *Vegetation of Central Asia and Environs*. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 239-262. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-99728-5>
13. Yessenbayeva J, Duisenbekova O, Sharipov G, et al. Development of a strategy for the conservation of rare and endangered species of medicinal plants in Kazakhstan. *Casp J Environ Sci*. 2025;23(2):369-375. <https://doi.org/10.22124/CJES.2025.8708>

14. Khoroshun DV. Environmental monitoring of the state of environment of the Kumkol field. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2020;459(4):042018. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/459/4/042018>
15. Kubentayev SA, Alibekov DT, Tustubayeva ShT, et al. Checklist of rare plants of the flora Ulytau Region. Bulletin of the Karaganda University. Biology. Medicine. Geography Series. 2024;29(4):62-69. <https://doi.org/10.31489/2024bmg4/62-69>
16. Kupriyanov AN. Konspekt flory Kazakhskogo melkosopochnika [Synopsis of the flora of the Kazakh uplands]. Novosibirsk: Academic Publishing House Geo; 2020. 358 p. [in Russian]
17. Kupriyanov AN, Khrustaleva IA, Adekenov SM, et al. Flora Bolshogo Ulytau [Flora of the Great Ulytau]. Novosibirsk: Geo; 2017. [in Russian]
18. Lee B, Kwon CY, Kim YJ, et al. Research status of east Asian traditional medicine treatment for chronic cough: a scoping review. PLoS One. 2024;19(2):e0296898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0296898>
19. Ishmuratova MYu, Myrzaly GZh, Ivlev VI, et al. Flora gor Ulytau (Tsentralnyy Kazakhstan) [Flora of the Ulytau Mountains (Central Kazakhstan)]. Karaganda: RIO «Bolashak-Baspa»; 2016. 127 p. [in Russian]
20. Arysbaeva R, Karzhaubekova Z, Ramazanova M, et al. Preservation of ex-situ gene pool of rare medicinal plant species in Kazakhstan. BIO Web Conf. 2024;100:04020. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410004020>
21. Berganayeva G, Kudaibergenova B, Litvinenko Y, et al. Medicinal plants of the flora of Kazakhstan used in the treatment of skin diseases. Molecules. 2023;28(10):4192. <https://doi.org/10.3390/molecules28104192>
22. Ishmuratova M, Myrzaly G, Ivlev V, et al. A list of vascular plants of Ulytau State National Natural Park [dataset]. Karaganda: Karaganda Buketov University; 2023. <https://doi.org/10.15468/pdj4mq>
23. Reta C, Atlabachew M, Asmellash T, et al. Polyphenol and flavonoid content in major teff [Eragrostis tef (Zuccagni) Trotter] varieties in Amhara Region, Ethiopia. PLoS One. 2022;17(8):e0272010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272010>
24. Sarker U, Oba S. Polyphenol and flavonoid profiles and radical scavenging activity in leafy vegetable Amaranthus gangeticus. BMC Plant Biol. 2020;20(1):499. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02700-0>
25. Seo CS, Jung MS, Shin HK, et al. In vitro and in vivo genotoxicity assessments and phytochemical analysis of the traditional herbal prescription Siryung-Tang. Molecules. 2022;27(13):4066. <https://doi.org/10.3390/molecules27134066>
26. Ali S, Ahmad K, Shaikh S, et al. Identification and evaluation of traditional Chinese medicine natural compounds as potential myostatin inhibitors: an in silico approach. Molecules. 2022;27(13):4303. <https://doi.org/10.3390/molecules27134303>
27. Ulytau State Nature Reserve-Museum. Nature of Ulytau [Internet]. [cited 2025 Jul 29]. Available from: <https://ulytaureserve.kz/ru/priroda-ulytau>
28. Wei X, Shu J, Fahad S, et al. Polyphenol oxidases regulate pollen development through modulating flavonoids homeostasis in tobacco. Plant Physiol Biochem. 2023;198:107702. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107702>
29. Xiong Y, Long C. An ethnoveterinary study on medicinal plants used by the Buyi people in Southwest Guizhou, China. J Ethnobiol Ethnomed. 2020;16(1):46. <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00396-y>

30. Zhumashova ME, Imanbayeva MYu, Aitbayeva GA, et al. Macro- and microscopic evaluation of above-ground parts of *Prunella vulgaris* L., growing on the territory of the Republic of Kazakhstan. Res J Pharm Technol. 2024;17(1):156-162. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00025>

Скрининг лекарственных растений в Улытауской области и их общие характеристики

А.А. Шарип¹, С.А. Абиев², Г.Т. Ситпаева³, Б.Б. Осмонали⁴

^{1,2}Евразийский Национальный университет имени Л.Н.Гумилева, Астана, Казахстан

^{3,4}Институт ботаники и фитоинтродукции, Алматы, Казахстан

Аннотация. В статье представлен скрининг лекарственных растений в Улытауской области (Центральный Казахстан) и их общих ботанических и экологических свойств. В 2024-2025 годах были проведены полевые исследования в Жанааркинских и Улытауских районах, в ходе которых было обнаружено 502 вида из 315 родов и более 40 семейств высших сосудистых растений. Наибольшее видовое разнообразие наблюдалось в семействах *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae* и *Campanulaceae*. Анализ жизненных форм показал преобладание многолетних травянистых растений (65-70%), что свидетельствует об экологической гибкости флоры в условиях резко континентального климата. Однолетние и двулетние виды составляют 15% и 8-10% флоры соответственно, в то время как кустарники, деревья и лианы встречаются гораздо реже. Изучение применения лекарственных растений показало, что количество видов, используемых в народной медицине, - около 400, в официальной медицине — около 180, а в восточной, экспериментальной, западной медицине, ветеринарии и гомеопатии - от 10 до 120 видов. Работа подтверждает высокую таксономическую и экологическую ценность лекарственной флоры Улытауской области и дополнительно акцентирует внимание на ее роли как источника природных биологически активных соединений для фармакологии и медицины.

Ключевые слова: лекарственные растения, флора Улытауской области, таксономическое разнообразие, формы жизни, народная медицина, биологически активные соединения, Центральный Казахстан.

Ұлытау облысындағы дәрілік өсімдіктердің скринингі және олардың жалпы сипаттамалары

А.А. Шәріп^{*1}, С.А. Абиев², Г.Т. Ситпаева³, Б.Б. Осмонали⁴

^{1,2}Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

^{3,4}Ботаника және фитоинтродукция бағы, Алматы, Қазақстан

Аңдатпа. Бұл мақалада Ұлытау аймағындағы (Орталық Қазақстан) дәрілік өсімдіктердің скринингі және олардың жалпы ботаникалық және экологиялық қасиеттері ұсынылған. 2024-2025 жылдары Жаңаарқа және Ұлытау аудандарында далалық зерттеулер жүргізілді, оның барысында 315 туыстан және 40-тан астам жоғары сатыдағы тамырлы өсімдіктер тұқымдасынан 502 түр анықталды. Түрлердің ең жоғары әртүрлілігі *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae* және *Campanulaceae* тұқымдастарында байқалды. Тіршілік

формаларын талдау көпжылдық шөптесін өсімдіктердің басым екенін (65-70%) анықтады, бұл күрт континенталды климатта флораның экологиялық икемділігін көрсетеді. Біржылдық және екіжылдық түрлер флораның сәйкесінше 15% және 8-10% құрайды, ал бұталар, ағаштар және лианалар әлдеқайда сирек кездеседі. Дәрілік өсімдіктерді пайдалануды зерттеу халық медицинасында қолданылатын түрлердің саны (шамамен 400 түрі) дәстүрлі медицинада шамамен 180 екенін, ал шығыс, эксперименттік және батыс медицинасында, ветеринарияда және гомеопатияда 10-нан 120-ға дейін түрі қолданылатынын анықтады. Зерттеу Ұлытау аймағының дәрілік флорасының жоғары таксономиялық және экологиялық құндылығын растайды және оның фармакология мен медицина үшін табиғи биологиялық белсенді қосылыстардың көзі ретіндегі рөлін одан әрі атап көрсетеді.

Түйін сөздер: дәрілік өсімдіктер, Ұлытау облысының флорасы, таксономиялық әртүрлілік, тіршілік формалары, халық медицинасы, биологиялық белсенді қосылыстар, Орталық Қазақстан.

Сведения об авторах:

Шарип Айзат Амантаевна – автор-корреспондент, младший научный сотрудник лаборатории интродукции цветочно-декоративных культур открытого грунта, Астанинский ботанический сад, ул. Орынбор, 14Б, 010000, Астана, Казахстан.

Абиев Сардарбек Абиевич – доктор биологических наук, профессор кафедры «Общая биология и геномика», Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, ул. Сатпаева, 2, 010000, Астана, Казахстан.

Ситпаева Гульнара Токбергеновна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт ботаники и фитоинтродукции, ул. Тимирязева, 36 д, 050000, Алматы, Казахстан.

Осмонали Бектемир Беримкулович – PhD, заведующий лаборатории кадастра растительного мира, Институт ботаники и фитоинтродукции, ул.Тимирязева, 36 д, 050000, Алматы, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Шәріп Айзат Амантайқызы – хат-хабар авторы, ашық грунттағы гүлдік-сәндік дақылдарды интродукциялау зертханасының кіші зертханашысы, Астана ботаникалық саябағы, Орынбор көшесі 14Б, 010000, Астана, Қазақстан.

Абиев Сардарбек Абиевич – биология ғылымдарының докторы, Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық Университетінің «Жалпы биология мен геномика» кафедрасының профессоры, Сәтпаев көшесі 2, 010000, Астана, Қазақстан.

Ситпаева Гульнара Токбергеновна – биология ғылымдарының докторы, Ботаника және фитоинтродукция институтының жетекші ғылыми қызметкері, Тимирязев көшесі 36, 050000, Алматы, Қазақстан.

Осмонали Бектемір Бірімқұлұлы – PhD, Ботаника және фитоинтродукция институты, өсімдіктер әлемінің кадастры зертханасының меңгерушісі, Тимирязев көшесі 36, 050000, Алматы, Қазақстан.

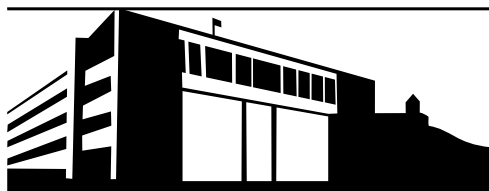
Authors' information:

Sharip Aizat – corresponding author, junior laboratory assistant, Laboratory of Introduction Flower and Ornamental Crops for Open Ground, Astana Botanical Garden, Orynbor street 14 b, 010000, Astana, Kazakhstan.

Abiyev Sardarbek – Doctor of biological sciences, Professor, Department General Biology and Genomics of Eurasian National University of L.N. Gumilyov, Satpayev street 2, 010000, Astana, Kazakhstan.

Sitpayeva Gulnara – Doctor of biological science, Leading researcher, Institute of Botany and phytointroduction, Timiryazev street 36 d, 050000, Almaty, Kazakhstan.

Osmonali Bektemir – PhD, Head of the Plant Cadastre Laboratory, Timiryazev street 36 d, 050000, Almaty, Kazakhstan.



МРНТИ 34.31.33

Научная статья

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-176-190>

Сравнительная характеристика морфогенеза сортов картофеля в условиях *in vitro*

В.А. Жиденко¹ , И.Н. Аникина^{*2} , А. Ибраева³

^{1,2,3} Торайгыров университет, Павлодар, Казахстан

E-mail: ¹vika_7625@mail.ru, ²anikina.i@mail.ru, ³kairova_aruzhan@mail.ru

Аннотация. В данной статье представлены результаты исследований морфогенеза различных сортов картофеля в условиях *in vitro*. Целью исследования являлось изучение и оценка сортовой специфичности роста и развития растений картофеля в условиях культуры *in vitro* при микроклональном размножении с одинаковыми параметрами культивирования. В ходе работы проводился сравнительный анализ морфометрических показателей микрорастений, включая высоту побегов, количество междоузлий, формирование листового аппарата и особенности развития корневой системы культуральных растений. Установлено, что исследуемые сорта картофеля, такие как Аризона, Балтик Роуз и Гала, существенно отличаются по скорости роста, интенсивности формирования побегов и развитию корневой системы, что указывает на генотипическую обусловленность морфогенетических процессов, что подтверждает необходимость разработки сортоспецифических протоколов при микроклональном размножении картофеля. Также выявлена прямая зависимость роста и развития растений от характеристик исходного экспланта. Полученные данные могут быть применены для совершенствования методик планирования работ в производственных лабораториях по производству оздоровленного посадочного материала картофеля, а также для оптимизации технологий его микроклонального размножения.

Ключевые слова: картофель, *in vitro*, микроклональное размножение, морфогенез, сортовая специфичность, ризогенез

Введение

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является одной из ключевых продовольственных культур во многих странах мира, включая Казахстан, где он занимает важное место в структуре сельскохозяйственного производства [1, 2, 3]. Однако продуктивность культуры во многом ограничивается распространением вирусных, бактериальных и грибных заболеваний, которые накапливаются при традиционном вегетативном размножении. В связи с этим получение здорового исходного семенного материала представляет собой одну из наиболее актуальных задач современного картофелеводства [4, 5, 6, 7].

Наиболее эффективным способом оздоровления и ускоренного размножения картофеля является применение биотехнологических методов *in vitro*, основанных на культуре меристем и клональном микроразмножении [8, 9, 10, 11]. Данная технология позволяет получать безвирусные растения-регенеранты и сохранять сортовые особенности, что особенно важно, поскольку большинство сортов картофеля являются высокогетерозиготными клонами и размножаются исключительно вегетативным путем [9, 12, 13].

Для тиражирования картофеля в условиях *in vitro* используются два основных подхода: метод индукции микроклубнеобразования и рассадный способ получения пробирочных растений [14, 15, 16]. Каждый из них имеет свои преимущества. Так, микроклубни отличаются удобством хранения и транспортировки в межсезонный период, что делает их перспективным посадочным материалом [17, 18]. В то же время пробирочные растения требуют постоянного субкультивирования и поддержания стерильных условий, что увеличивает трудоемкость процесса и повышает риск вторичного заражения при длительном размножении [19].

Несмотря на это, технология наращивания пробирочных микрорастений остается наиболее широко применяемой как в мировой практике, так и в Казахстане, поскольку обеспечивает высокий коэффициент размножения и возможность быстрого получения большого количества посадочного материала [20, 21, 22].

Многочисленные исследования подчеркивают, что процессы морфогенеза картофеля в культуре *in vitro* обладают выраженной сортовой специфичностью. Показано, что различные генотипы существенно отличаются по скорости роста, числу междоузлий, способности к ризогенезу и формированию микроклубней [14, 21, 22]. Это требует подбора оптимальных условий культивирования, включая минеральный состав среды, концентрации углеводов и соотношение фитогормонов [23, 24, 25].

Размер экспланта критически влияет на эффективность культивирования растений *in vitro*, считается, что более крупные экспланты быстрее адаптируются и развиваются, так как имеют достаточный запас эндогенных гормонов, в то время как мелкие, по мнению ряда авторов, более уязвимы к стрессам и медленнее развиваются [26, 27, 28, 29]. При этом не только размер, но и другие характеристики первичного экспланта оказывают значительное влияние на его развитие [30, 31, 32].

Таким образом, сравнительное изучение морфогенеза различных сортов картофеля в условиях *in vitro* является необходимым этапом для совершенствования технологий микроразмножения и разработки оптимальных протоколов культивирования для планирования и ведения работ по производству мериклонов в производственных лабораториях.

Целью настоящей работы является сравнительная характеристика морфогенетических показателей сортов картофеля в культуре *in vitro* и оценка их сортоспецифических особенностей при микроклональном размножении.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в лаборатории «Инновационные методы в растениеводстве» Торайгыров университета и в производственной лаборатории биотехнологии растений КХ «Виктория» Павлодарской области.

Объектом исследований являлись культуральные растения картофеля сортов Аризона, Балтик Роуз и Гала. Опыт проводился в 3-х кратной повторности по 20 микро-растений. Исходный пробирочный материал картофеля был получен в ФИЦ картофеля имени А. Г. Лорха, г. Москва. Опыты проводились согласно общепринятой методике работы с культурой ткани [33].

Культуральные растения выращивались при температуре 22–24 °С, относительной влажности 70–75 % и освещении люминесцентными лампами 3–4 тыс. люкс с 16-часовым фотопериодом. Учет и наблюдения проводились каждые 3 дня по вариантам опыта. В процессе исследования, согласно общепринятым методикам, измерялись высота растений, количество листьев, количество междоузлий, число корней и длина корней [8, 14].

В исследовании использовалась агаризованная среда с минеральным составом Мурасиге-Скуга, содержащим сахарозу в количестве 20 г/л, витамины: аскорбиновая кислота (С) – 0,2 мг/л, тиамин (В1) – 0,2 мг/л, пиридоксин (В6) – 0,1 мг/л, а также регуляторы роста – кинетин, феруловая кислота и индолилмасляная кислота в количестве 1 мг/л каждого, бактериологический агар в количестве 7 г/л.

Для приготовления питательной среды были использованы компоненты производителя Himedia и Serva. Уровень pH среды доводили до 5,5–5,7. Питательная среда была разлита по пробиркам ПБ-16, закрыта ватно-марлевыми пробками и затем стерилизовалась в автоклаве при 1 атм при 120–121 °С в течение 25 минут.

Работы по микроклональному размножению проводились в условиях ламинарного бокса, 2 класс безопасности.

Статистическую обработку проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с факторами «сорт» и «время культивирования» с последующим апостериорным тестом Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде среднего значения (Mean) и стандартного отклонения (SD).

Результаты

В результате анализа показателей прироста высоты, формирования листьев, междоузлий и развития корневой системы у растений-регенерантов изучаемых сортов в условиях *in vitro* выявлены существенные различия в динамике морфогенеза.

В течение 30 суток культивирования растений-регенерантов сорта «Аризона» отмечалась выраженная положительная динамика роста побегов и корнеобразования. Уже на третьи сутки наблюдалось начало роста побегов, при этом корнеобразование отмечалось только у 40 % растений (3–5 корней длиной до 10 мм), тогда как в остальных вариантах развитие корней отсутствовало. Это свидетельствует о различной скорости адаптации эксплантов растений к условиям культивирования, связанной с особенностями самих эксплантов. Корнеобразование у растений сорта «Аризона» усилилось после 9–12 суток. К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта «Аризона» составил от 24 до 70 мм, причем это не зависело от длины исходного черенка. Количество корней также существенно различалось у разных растений данного сорта от 4 до 19 шт. В целом,

к 30 дню культивирования были сформированы полноценные развитые растения сорта Аризона (рисунок 1).



Рисунок 1. Растения сорта Аризона (30 дней культивирования).

В течение 30 суток культивирования у растений-регенерантов сорта «Балтик Роуз» отмечалась стабильная динамика прироста высоты, количества листьев, количества междоузлий, количество и длина корней, однако выраженность морфогенеза зависела от характеристик эксплантов растения. На начальном этапе (3 суток) рост побегов происходил умеренно, а начало корнеобразования отмечалось только у 40 % растений (1–2 корня длиной до 2 мм).

Начиная с 6 суток наблюдалось активное развитие корневой системы практически у всех растений. Максимальная длина корней (30 мм) достигалась к 12 суткам, после чего показатель стабилизировался.

Таким образом, сорт «Балтик Роуз» характеризуется сравнительно быстрым и равномерным развитием корневой системы в условиях *in vitro*, при этом отмечены у отдельных растений максимальные показатели роста побегов и формирования междоузлий, а у других наиболее интенсивное корнеобразование. К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта «Балтик Роуз» был на одном уровне и составил от 22–24 мм, при этом средняя высота растений составила 45 мм (рисунок 2). Прирост высоты был отмечен выше у растений из черенков до 20 мм. К 9 дню высота у этих растений увеличилась в среднем в 1,7 раз, к 30 дню в 2,1 раз. Это, по-видимому, объясняется тем, что данные черенки были получены с двух верхних ярусов исходных растений. Прирост высоты растений из черенков 25–30 мм к 9 дню увеличился в среднем в 1,5 раз, к 30 дню в 1,8 раз. Количество корней так же существенно различалось у разных растений данного сорта от 4 до 14 шт./растение. Полученные данные подтверждают зависимость морфогенеза сорта «Балтик Роуз» от особенностей исходного экспланта.



Рисунок 2. Растения сорта Балтик Роуз (30 дней культивирования).

При анализе показателей прироста высоты, количества листьев, количества междоузлий, а также количества и длины корней у растений-регенерантов сорта «Гала» была отмечена высокая морфогенетическая активность сорта, однако выраженность роста и ризогенеза имела незначительные различия между растениями.

К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта «Гала» составил от 33 до 41 мм. Количество корней также у разных растений данного сорта отмечалось примерно на одном уровне от 11 до 14 шт.

На начальном этапе (0–3 сутки) рост побегов происходил без образования корней на всех растениях сорта, что свидетельствует о более позднем начале ризогенеза по сравнению с сортами «Аризона» и «Балтик Роуз». Первые признаки активного корнеобразования отмечались на 6-е сутки, в дальнейшем растения переходили к активному развитию. В результате по средней высоте растений Сорт Гала опередил растения сорта Балтик Роуз, а по показателю листообразования сорт Гала опередил оба других изучаемых сорта.

Начиная с 9-х суток отмечалось активное развитие стебля и корней растений. Наиболее интенсивный рост побегов наблюдался у растений полученных с черенков верхних ярусов, где высота растений увеличилась в среднем с 15 мм в начале опыта до 50 мм к 9-му дню культивирования. В дальнейшем прирост высоты шел не так интенсивно и к 30 дню культивирования средний прирост высоты растений сорта Гала составил 56 мм. При этом изначальный размер черенков не оказал такого влияния по сравнению с расположением черенков.

По результатам двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Бонферрони выявлены статистически значимые различия между исследуемыми сортами по отдельным морфометрическим показателям на заключительном этапе культивирования, что отражено различными буквенными обозначениями на рисунках 3 и 4.

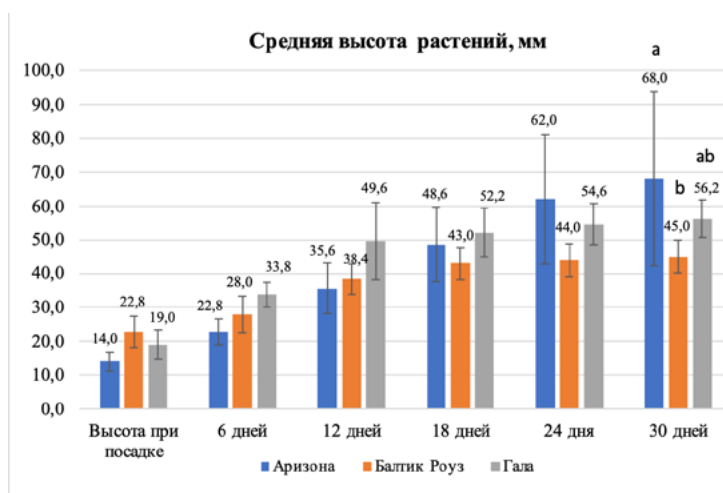


Рисунок 3. Динамика изменения средней высоты растений-регенерантов сортов картофеля в процессе 30-дневного культивирования *in vitro*. Данные представлены как Mean $\pm$ SD. Различные буквенные обозначения над столбцами указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами по результатам двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Бонферрони при $p < 0,05$.

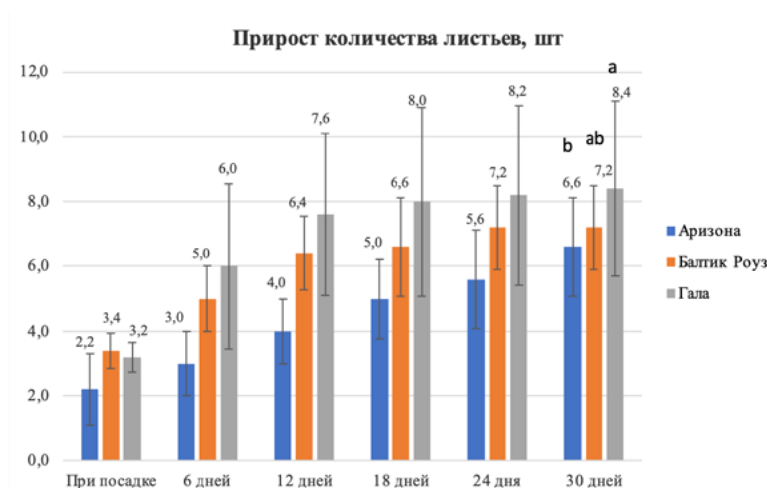


Рисунок 4. Динамика изменения среднего количества листьев у растений-регенерантов сортов картофеля в процессе 30-дневного культивирования *in vitro*. Данные представлены как Mean $\pm$ SD. Различные буквенные обозначения над столбцами указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами по результатам двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Бонферрони при $p < 0,05$.

Черенки со средним размером 23 мм после 30 дней культивирования увеличили свою высоту в 2,5 раз, а черенки размером 15 мм в 3,6 раз. При этом максимальное формирование листового аппарата зафиксировано у растений, полученных из черенков большего размера (до 13 листьев) и увеличение числа междоузлий до 6. При культивировании у растений из черенков более 22 мм было отмечено увеличение листообразова-

ния: в среднем на 17,5 % больше по сравнению с растениями из черенков размером до 17 мм, что свидетельствует о более высоком коэффициенте размножения таких растений в условиях *in vitro*.

К 30 дню культивирования растения сорта Гала были полноценно сформированы (рисунок 5).



Рисунок 5. Растения сорта Гала (30 дней культивирования).

Обсуждение

Полученные в ходе исследования результаты подтверждают, что морфогенез картофеля в условиях культуры *in vitro* в значительной степени определяется генотипическими особенностями сорта. Несмотря на одинаковые условия культивирования и применение идентичных вариантов питательных сред, исследуемые сорта проявили различия в темпах роста, формировании листового аппарата, числе междоузлий и развитии корневой системы.

Различия между сортами подтверждают данные литературы о том, что процессы регенерации, ризогенеза и формирования междоузлий в культуре *in vitro* обладают выраженной сортовой специфичностью и зависят от генетически обусловленных особенностей метаболизма и гормональной регуляции растений, что подтверждают исследования Е Oves, I Anikina и др. (2021). В связи с этим оптимизация протоколов микроклонального размножения должна учитывать индивидуальные требования каждого сорта, поскольку универсальные условия культивирования не всегда обеспечивают максимальную эффективность.

Таким образом, в ходе исследования были получены данные о том, что разные сорта картофеля имеют различия в темпах развития при одинаковых условиях выращивания *in vitro*, то есть проявляют сортовую специфичность. Это подтверждает необходимость разработки сортоспецифических подходов при производстве оздоровленного посадочного материала и совершенствовании технологий микроклонального размножения картофеля.

Заключение

В результате проведенного исследования обнаружено, что морфогенез сортов картофеля в культуре *in vitro* отличается сортовой специфичностью. При одинаковых условиях культивирования у разных сортов существенно отличаются скорость роста, формирование листового аппарата, количество междоузлий и развитие корневой системы.

Сорт Аризона отличался высокой интенсивностью роста побегов, активным образованием междоузлий и хорошо развитой корневой системой, что указывает на высокий регенерационный потенциал и перспективность его использования в технологиях ускоренного микрклонального размножения. Уже на третьи сутки наблюдалось начало роста побегов, при этом отмечено корнеобразование у 40 % растений (3–5 корней длиной до 10 мм). К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта Аризона составил от 24 до 70 мм, средняя высота растений составила 68 мм, причем это не зависело от длины исходного черенка. Это свидетельствует о различной скорости адаптации эксплантов растений к условиям культивирования, связанной с особенностями самих эксплантов.

Сорт Балтик Роуз характеризовался более умеренными темпами роста побегов. На 3 сутки корнеобразование отмечалось так же только у 40 % растений (1–2 корня длиной до 2 мм). К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта Балтик Роуз был на одном уровне и составил от 22–24 мм, при этом средняя высота растений составила 45 мм.

Сорт Гала характеризовался высокими морфометрическими показателями, особенно по формированию листового аппарата. На начальном этапе (0–3 суток) рост побегов происходил без образования корней на всех растениях сорта, что свидетельствует о более позднем начале ризогенеза по сравнению с сортами Аризона и Балтик Роуз. Первые признаки активного корнеобразования отмечались на 6-е сутки, в дальнейшем растения переходили к активному развитию. В результате по средней высоте растений Сорт Гала опередил растения сорта Балтик Роуз, а по показателю листообразования сорт Гала опередил оба других изучаемых сорта.

К 30 суткам прирост высоты растений-регенерантов сорта Гала составил от 33 до 41 мм, высота в среднем составила 56 мм. Количество корней у разных растений данного сорта отмечалось примерно на одном уровне от 11 до 14 шт.

Максимальные показатели ризогенеза отмечены у сорта Аризона до 19 корней длиной 30 мм, что подтверждает высокий потенциал корнеобразования данного сорта в данных условиях выращивания.

Полученные данные подтверждают, что применение стандартных схем микрклонального размножения не всегда обеспечивает максимальную эффективность для различных сортов картофеля. В связи с этим оптимизация технологии должна проводиться с учётом генотипических особенностей каждого сорта, что позволит повысить коэффициент размножения, улучшить качество культуральных растений и снизить затраты на получение оздоровленного посадочного материала картофеля.

Практическая значимость данного исследования заключается в возможности использования полученных результатов при оптимизации биотехнологических методов производства исходного семенного материала картофеля. Это имеет особо важное значение для повышения эффективности системы семеноводства и ускоренного внедрения перспективных сортов картофеля в сельскохозяйственное производство.

Вклад авторов

И.А. – концепция и руководство работой, редактирование текста статьи; В.Ж. – проведение экспериментов, написание текста. Все авторы ознакомились с окончательной версией статьи и одобрили ее.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

Список литературы

1. Жигадло ТЭ. Разнообразие сортов картофеля из Мировой коллекции ВИР в северных условиях. Овощи России. 2024;(3):30-35. doi.org/10.18619/2072-9146-2024-3-30-35
2. Tokbergenova Z, Aitbayev T, Sharipova D, et al. Potato (*Solanum tuberosum* L.) healthy planting material development through innovative methods. Sabrao J Breed Genet. 2025;57(3):1168-1179. doi.org/10.54910/sabrao2025.57.3.28
3. Абеуова ЛС, Кали БР, Рахимжанова АО. Высокочастотная прямая побеговая регенерация казахстанских коммерческих сортов картофеля. PeerJ. 2020;8:e9447. doi:10.7717/peerj.9447 doi.org/10.7717/peerj.9447
4. Asil MA, Beisov K, Tokbergenova ZhA, et al. Improvement of the potato seed production system on a virus-free basis in Almaty region. Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология. Медицина. География». 2024;29(1):28-35. doi.org/10.31489/2024BMG1/28-35
5. Сураганова АМ, Сураганов МН. Биотехнологические подходы к оздоровлению и селекции картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в Казахстане и странах Евразии. Вестник Северо-Казахстанского университета имени Манаша Козыбаева. 2025;(3):148-152. doi.org/10.54596/2958-0048-2025-3-148-152
6. Anikina I, Kamarova A, Issayeva K, et al. Plant protection from virus: a review of different approaches. Front Plant Sci. 2023;14:1163270. doi.org/10.3389/fpls.2023.1163270
7. Аргынбаева А, Дауров Д, Сапахова Z. Вирусы картофеля в Казахстане и методы получения безвирусного семенного материала. Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева. Серия Биологические науки. 2023;144(3):54-68
8. Аникина И, Кусаинов А, Жагипарова М, Инсебаева М. Температурный фактор выращивания как регулятор морфогенеза растений картофеля *in vitro*. Вестник Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилёва. Серия Биология. 2023;(4):54-62
9. Овэс ЕВ, Гаитова НА, Шишкина ОА. Сохранение сортовых ресурсов картофеля в полевой и *in vitro* коллекциях Федерального исследовательского центра картофеля имени А.Г. Лорха. Биотехнология и селекция растений. 2022;5(1):28-41. doi.org/10.30901/2658-6266-2022-1-05
10. Batta S, Thakur AK, Singh R, et al. *In vitro* induction and plant regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Sangam. Vegetos. 2025. doi.org/10.1007/s42535-025-01181-6

11. Sudheer WN, Praveen N, Al-Khayri JM, Jain SM. Role of plant tissue culture medium components. In: Rai AC, Kumar A, Modi A, Singh M, editors. *Advances in plant tissue culture*. Elsevier; 2022;51-83. doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00012-6
12. Gong H, Igiraneza C, Dusengemungu L. Major *in vitro* techniques for potato virus elimination and post eradication detection methods: a review. *Am J Potato Res*. 2019;96:379-389. doi.org/10.1007/s12230-019-09720-z
13. Melyan GH, Martirosyan YT, Sahakyan AJ, et al. Influence of nutrient medium components on *in vitro* tuberization of *Solanum tuberosum* L. *Life*. 2025;15(2):241. doi.org/10.3390/life15020241
14. Oves E, Anikina I, Gaitova N, et al. Evaluation parameters of *in vitro* morphogenesis in the process of replication of potato starting material. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021;677:042030. doi.org/10.1088/1755-1315/677/4/042030
15. Hajare ST, Chauhan NM, Kassa G. Effect of growth regulators on *in vitro* micropropagation of potato. *Sci World J*. 2021;2021:5928769. doi.org/10.1155/2021/5928769
16. Volkov DV, Argyrbayeva AM, Daurov DL, et al. Accelerated production of virus-free potato planting material using a bioreactor. *Acad J Phys Chem Sci [Internet]*. 2020 Oct 12 [cited 2026 Mar 31];5:56-62. doi.org/10.32014/2020.2518-1483.119
17. Char M, Subrahmanyeswari T, Bhattacharyya S, et al. Meta-topolin-induced *in vitro* propagation and genetic stability assessment of potato cv. Badami alu. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2023;155:809-826. doi.org/10.1007/s11240-023-02601-8
18. Boubaker H, Saadaoui W, Dasgan HY, et al. Enhancing seed potato production from *in vitro* plantlets and microtubers. *Agronomy*. 2023;13:2541. doi.org/10.3390/agronomy13102541
19. Дауров Д, Абилда Ж, Календарь Р. Оптимизация регуляторов роста в жидкой питательной среде для получения микроклубней в биореакторе. *Izdenister Natigeler*. 2024;(3):230-239. doi.org/10.37884/3-2024/265
20. Jacome Sarchi GA, Coronel Montesdeoca NT, Hernandez F, et al. *In vitro* techniques for seed potato tuber production: a systematic review. *Plants*. 2025;14:2777. doi.org/10.3390/plants14172777
21. Bettoni JC, Wang MR, Wang QC. *In vitro* regeneration, micropropagation and germplasm conservation of horticultural plants. *Horticulturae*. 2024;10(1):45. doi.org/10.3390/horticulturae10010045
22. Nyawade S, Atieno E, Parker M, Sharma K. Potato rooted apical cuttings' productivity is shaped by mother plant physiological age and environment. *Potato Res*. 2026;69(2). doi.org/10.1007/s11540-025-09968-5
23. Daurov D, Daurova A, Sapakhova Z, et al. The impact of growth regulators and temporary immersion systems on potato explants. *Agronomy*. 2024;14:1782. doi.org/10.3390/agronomy14081782
24. Игнатьев ДИ, Подолян ЕА. Оптимизация питательных сред для размножения картофеля *in vitro*. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2025;(5):39-45. doi.org/10.7868/S3034519725050075
25. Wang X, Zheng K, Na T, et al. Transcriptomic profiles reveal hormonal regulation of sugar-induced stolon initiation in potato. *Sci Rep*. 2025;15:19122. doi.org/10.1038/s41598-025-02215-4
26. El Boullani R, Lagram K, El Mousadik A, Serghini MA. Effect of explants density and size on *in vitro* proliferation of globe artichoke. *J Mater Environ Sci*. 2017;8(7):2469-2473
27. Martini AN, Vlachou G, Papafotiou M. Effect of explant origin and plant growth regulators on *Salvia tomentosa*. *Agronomy*. 2022;12(8):1889. doi.org/10.3390/agronomy12081889

28. Kara N, Baydar H. Effects of different explant sources on micropropagation in lavender. J Essent Oil Bear Plants. 2012;15:250-255
29. Papafotiou M, Vlachou G, Martini AN. Effects of explant type and growth regulators on *Salvia* spp. micropropagation. Horticulturae. 2023;9(1):96. doi.org/10.3390/horticulturae9010096
30. Joseph RM, Anil SR, Krishna R, et al. Role of season, explant source and media in *in vitro* tuberization. Int J Veg Sci. 2025;31(2):221-233. doi.org/10.1080/19315260.2025.2459843
31. Das R, Kretzschmar T, Mieog JC. Importance of media composition and explant type in *Cannabis sativa* tissue culture. Plants. 2024;13(18):2544. doi.org/10.3390/plants13182544
32. Anjum MA, Ali H. Effect of culture medium on organogenesis in potato genotypes. Biotechnology. 2004;3:187-193. doi.org/10.3923/biotech.2004.187.193
33. Дитченко ТИ. Культура клеток, тканей и органов растений. Минск: БГУ; 2007.

Картоп сорттарының *in vitro* жағдайындағы морфогенезінің салыстырмалы сипаттамасы

В.А. Жиденко¹, И.Н. Аникина ^{*2}, А. Ибраева³

^{1,2,3} Торайғыров университеті, Павлодар, Қазақстан

Аңдатпа. Бұл мақалада картоптың әртүрлі сорттарының *in vitro* жағдайындағы морфогенезіне жүргізілген зерттеулердің нәтижелері ұсынылған. Зерттеудің мақсаты – бірдей культивирлеу параметрлері жағдайында микроклоналды көбейту кезінде картоп өсімдіктерінің өсуі мен дамуының сорттық ерекшеліктерін зерттеу және бағалау болып табылады.

Жұмыс барысында микроөсімдіктердің морфометриялық көрсеткіштеріне салыстырмалы талдау жүргізілді, оның ішінде өркендердің биіктігі, буынаралықтардың саны, жапырақ аппаратының қалыптасуы және культуралық өсімдіктердің тамыр жүйесінің даму ерекшеліктері қарастырылды. Зерттеу нәтижесінде Аризона, Балтик Роуз және Гала сияқты картоп сорттарының өсу қарқыны, өркендердің қалыптасу қарқындылығы және тамыр жүйесінің дамуы бойынша айтарлықтай айырмашылықтары бар екені анықталды. Бұл морфогенетикалық процестердің генотиптік тұрғыдан шартталғанын көрсетеді және картопты микроклоналды көбейту кезінде сортқа тән (сортоспецификалық) хаттамаларды әзірлеу қажеттілігін дәлелдейді. Сонымен қатар, өсімдіктердің өсуі мен дамуы бастапқы экспланттың сипаттамаларына тікелей тәуелді екені анықталды. Алынған нәтижелер картоптың сауықтырылған отырғызу материалын өндіретін өндірістік зертханаларда жұмыс жоспарлау әдістерін жетілдіруге, сондай-ақ оны микроклоналды көбейту технологияларын оңтайландыруға қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: картоп, *in vitro*, микроклоналды көбейту, морфогенез, сорттық ерекшелік, ризогенез

Comparative characteristics of morphogenesis in potato varieties under *in vitro* conditions

V.A. Zhidenko¹, I.N. Anikina ^{*2}, A. Ibraeva³

^{1,2,3} Toraighyrov University, Pavlodar, Kazakhstan

Abstract. This article presents the results of studies on the morphogenesis of various potato varieties under *in vitro* conditions. The aim of the study was to investigate and evaluate the varietal specificity of potato plant growth and development under *in vitro* culture conditions during microclonal propagation with identical cultivation parameters. During the study, a comparative analysis of the morphometric parameters of microplants was conducted, including shoot height, number of internodes, leaf formation, and characteristics of root system development in cultured plants. It was established that the potato varieties studied, such as Arizona, Baltic Rose, and Gala, differ significantly in growth rate, shoot formation intensity, and root system development, indicating that morphogenetic processes are genotypically determined, which confirms the need to develop variety-specific protocols for microclonal propagation of potatoes. A direct dependence of plant growth and development on the characteristics of the initial explant was also identified. The data obtained can be used to improve methods for planning work in production laboratories for the production of disease-free potato planting material, as well as to optimize technologies for its microclonal propagation.

Keywords: potato, *in vitro*, microclonal propagation, morphogenesis, variety specificity, rhizogenesis

References

1. Zhigadlo TE. Raznoobrazie sortov kartofelya iz Mirovoj kolekcii VIR v severnykh usloviyakh [The diversity of potato varieties from the VIR World Collection under northern conditions]. *Ovoshchi Rossii* [Vegetables of Russia]. 2024;(3):30-35. doi.org/10.18619/2072-9146-2024-3-30-35
2. Tokbergenova Z, Aitbayev T, Sharipova D, et al. Potato (*Solanum tuberosum* L.) healthy planting material development through innovative methods. *Sabrao J Breed Genet*. 2025;57(3):1168-1179. doi.org/10.54910/sabrao2025.57.3.28
3. Abeuova LS, Kali BR, Rahimzhanova AO. Vysokochastotnaya pryamaya pobegovaya regeneraciya kazakhstanskih kommercheskih sortov kartofelya [High-frequency direct shoot regeneration of Kazakhstani commercial potato varieties]. *PeerJ*. 2020;8:e9447. doi:10.7717/peerj.9447 doi.org/10.7717/peerj.9447
4. Asil MA, Beisov K, Tokbergenova ZhA, et al. Improvement of the potato seed production system on a virus-free basis in Almaty region. *Bulletin of the Karaganda University. Series «Biology. Medicine. Geography»*. 2024;29(1):28-35. doi.org/10.31489/2024BMG1/28-35
5. Suraganova AM, Suraganov MN. Biotehnologicheskie podhody k ozdorovleniyu i selekcii kartofelya (*Solanum tuberosum* L.) v Kazakhstane i stranah Evrazii [Biotechnological Approaches to Potato Health Improvement and Breeding (*Solanum tuberosum* L.) in Kazakhstan and Eurasian Countries]. *Vestnik of M Kozybayev North Kazakhstan University*. 2025;(3):148-152. doi.org/10.54596/2958-0048-2025-3-148-152
6. Anikina I, Kamarova A, Issayeva K, et al. Plant protection from virus: a review of different approaches. *Front Plant Sci*. 2023;14:1163270. doi.org/10.3389/fpls.2023.1163270

7. Argynbaeva A, Daurov D, Sapahova Z. Virussy kartofelya v Kazahstane i metody polucheniya bezvirusnogo semennogo materiala [Potato Viruses in Kazakhstan and Methods for Producing Virus-Free Seed Potatoes]. *Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. Bioscience Series*. 2023;144(3):54-68
8. Anikina I, Kusainov A, ZHagiparova M, Insebaeva M. Temperaturnyj faktor vyrashchivaniya kak reguljator morfogeneza rastenij kartofelya *in vitro* [The temperature factor in cultivation as a regulator of potato plant morphogenesis *in vitro*]. *Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. Biology Series*. 2023;(4):54-62
9. Oves EV, Gaitova NA, SHishkina OA. Sohranenie sortovyh resursov kartofelya v polevoj i *in vitro* kollekciyah Federal'nogo issledovatel'skogo centra kartofelya imeni A.G. Lorha [Conservation of potato germplasm in field and *in vitro* collections at the A.G. Lorch Federal Potato Research Center]. *Biotehnologiya i selekciya rastenij* [Biotechnology and Plant Breeding]. 2022;5(1):28-41. doi.org/10.30901/2658-6266-2022-1-05
10. Batta S, Thakur AK, Singh R, et al. *In vitro* induction and plant regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Sangam. *Vegetos*. 2025. doi.org/10.1007/s42535-025-01181-6
11. Sudheer WN, Praveen N, Al-Khayri JM, Jain SM. Role of plant tissue culture medium components. In: Rai AC, Kumar A, Modi A, Singh M, editors. *Advances in plant tissue culture*. Elsevier; 2022:51-83. doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00012-6
12. Gong H, Igriraneza C, Dusengemungu L. Major *in vitro* techniques for potato virus elimination and post eradication detection methods: a review. *Am J Potato Res*. 2019;96:379-389. doi.org/10.1007/s12230-019-09720-z
13. Melyan GH, Martirosyan YT, Sahakyan AJ, et al. Influence of nutrient medium components on *in vitro* tuberization of *Solanum tuberosum* L. *Life*. 2025;15(2):241. doi.org/10.3390/life15020241
14. Oves E, Anikina I, Gaitova N, et al. Evaluation parameters of *in vitro* morphogenesis in the process of replication of potato starting material. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021;677:042030. doi.org/10.1088/1755-1315/677/4/042030
15. Hajare ST, Chauhan NM, Kassa G. Effect of growth regulators on *in vitro* micropropagation of potato. *Sci World J*. 2021;2021:5928769. doi.org/10.1155/2021/5928769
16. Volkov DV, Argynbayeva AM, Daurov DL, et al. Accelerated production of virus-free potato planting material using a bioreactor. *Acad J Phys Chem Sci* [Internet]. 2020 Oct 12 [cited 2026 Mar 31];5:56-62. doi.org/10.32014/2020.2518-1483.119
17. Char M, Subrahmanyeswari T, Bhattacharyya S, et al. Meta-topolin-induced *in vitro* propagation and genetic stability assessment of potato cv. Badami alu. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2023;155:809-826. doi.org/10.1007/s11240-023-02601-8
18. Boubaker H, Saadaoui W, Dasgan HY, et al. Enhancing seed potato production from *in vitro* plantlets and microtubers. *Agronomy*. 2023;13:2541. doi.org/10.3390/agronomy13102541
19. Daurov D, Abilda ZH, Kalendar' R. Optimizaciya reguljatorov rosta v zhidkoj pitatel'noj srede dlya polucheniya mikroklubnej v bioreaktore [Optimization of growth regulators in a liquid culture medium for the production of microtubers in a bioreactor]. *Izdenister Natigeler*. 2024;(3):230-239. doi.org/10.37884/3-2024/265
20. Jacome Sarchi GA, Coronel Montesdeoca NT, Hernandez F, et al. *In vitro* techniques for seed potato tuber production: a systematic review. *Plants*. 2025;14:2777. doi.org/10.3390/plants14172777
21. Bettoni JC, Wang MR, Wang QC. *In vitro* regeneration, micropropagation and germplasm conservation of horticultural plants. *Horticulturae*. 2024;10(1):45. doi.org/10.3390/horticulturae10010045

22. Nyawade S, Atieno E, Parker M, Sharma K. Potato rooted apical cuttings' productivity is shaped by mother plant physiological age and environment. *Potato Res.* 2026;69(2). doi.org/10.1007/s11540-025-09968-5
23. Daurov D, Daurova A, Sapakhova Z, et al. The impact of growth regulators and temporary immersion systems on potato explants. *Agronomy.* 2024;14:1782. doi.org/10.3390/agronomy14081782
24. Ignat'ev DI, Podolyan EA. Optimizaciya pitatel'nyh sred dlya razmnozheniya kartofelya *in vitro* [Optimization of culture media for *in vitro* potato propagation]. *Vestnik rossijskoj sel'skohozyajstvennoj nauki* [Journal of Russian Agricultural Science]. 2025;(5):39-45. doi.org/10.7868/S3034519725050075
25. Wang X, Zheng K, Na T, et al. Transcriptomic profiles reveal hormonal regulation of sugar-induced stolon initiation in potato. *Sci Rep.* 2025;15:19122. doi.org/10.1038/s41598-025-02215-4
26. El Boullani R, Lagram K, El Mousadik A, Serghini MA. Effect of explants density and size on *in vitro* proliferation of globe artichoke. *J Mater Environ Sci.* 2017;8(7):2469-2473
27. Martini AN, Vlachou G, Papafotiou M. Effect of explant origin and plant growth regulators on *Salvia tomentosa*. *Agronomy.* 2022;12(8):1889. doi.org/10.3390/agronomy12081889
28. Kara N, Baydar H. Effects of different explant sources on micropropagation in lavender. *J Essent Oil Bear Plants.* 2012;15:250-255
29. Papafotiou M, Vlachou G, Martini AN. Effects of explant type and growth regulators on *Salvia* spp. micropropagation. *Horticulturae.* 2023;9(1):96. doi.org/10.3390/horticulturae9010096
30. Joseph RM, Anil SR, Krishna R, et al. Role of season, explant source and media in *in vitro* tuberization. *Int J Veg Sci.* 2025;31(2):221-233. doi.org/10.1080/19315260.2025.2459843
31. Das R, Kretzschmar T, Mieog JC. Importance of media composition and explant type in *Cannabis sativa* tissue culture. *Plants.* 2024;13(18):2544. doi.org/10.3390/plants13182544
32. Anjum MA, Ali H. Effect of culture medium on organogenesis in potato genotypes. *Biotechnology.* 2004;3:187-193. doi.org/10.3923/biotech.2004.187.193
33. Ditchenko TI. Kul'tura kletok, tkanej i organov rastenij [Plant Cell, Tissue, and Organ Culture]. Minsk: BGU; 2007 [in Russian].

Сведения об авторах:

Жиденко Виктория Александровна – докторант по специальности «Биотехнология», факультет сельскохозяйственных наук, Торайгыров университет, ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан\

Аникина Ирина Николаевна – автор-корреспондент, кандидат сельскохозяйственных наук, профессор, факультет сельскохозяйственных наук, Торайгыров университет, ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Ибраева Аружан Досановна – магистрант, факультет сельскохозяйственных наук, Торайгыров университет, ул. Ломова, 64, 140008, Павлодар, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Жиденко Виктория Александровна – «Биотехнология» мамандығы бойынша докторант, Ауыл шаруашылық ғылымдар факультеті, Торайгыров университеті, Ломова көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Аникина Ирина Николаевна – хат-хабар авторы, ауыл шаруашылығы ғылымдарының кандидаты, профессор, Ауыл шаруашылық ғылымдар факультеті, Торайгыров университеті, Ломова көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

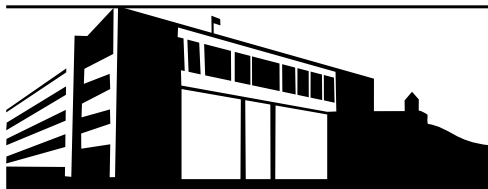
Ибраева Аружан Досановна – магистратура студенті, ауыл шаруашылығы ғылымдары факультеті, Торайғыров университеті, Ломова көшесі, 64, 140008, Павлодар, Қазақстан.

Authors' information:

Zhidenko Viktoriya – doctoral student in «Biotechnology», Faculty of Agricultural Sciences, Toraighyrov University, 64 Lomov Str, 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Anikina Irina – Corresponding author, Candidate of agricultural sciences, Professor, Faculty of Agricultural Sciences, Toraighyrov University, 64 Lomov Str, 140008, Pavlodar, Kazakhstan.

Ibrayeva Aruzhan – master's student, Faculty of Agricultural Sciences, Toraighyrov University, 64 Lomov Str, 140008, Pavlodar, Kazakhstan.



IRSTI 34733719
Research article

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2026-155-2-191-211>

The zoogeographical analysis of true bugs (Cimicomorpha, Heteroptera) of the Western Tien Shan

G.E. Mardenova*¹, P.A. Esenbekova², M.B. Zhaksybayev³, G.D. Anarbekova⁴

^{1,3}Abai Kazakh National Pedagogical University, Almaty, Kazakhstan

^{1,2}Institute of Zoology, Committee of Science of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan

⁴Kazakh National Women's Teacher Training University, Almaty, Kazakhstan

E-mail: *¹gaukhar.mardenova@zool.kz, ²esenbekova_periz@mail.ru,
³zh.murat_1966@mail.ru, ⁴g7348749@gmail.com

Abstract. This article presents a zoogeographic study of true bugs of the infraorder Cimicomorpha (Heteroptera) in the Western Tien Shan. Species were collected from several localities in the Western Tien Shan, ranging from lower elevations to high-altitude areas. The recorded species were assigned to 18 zoogeographical regions based on their distribution trends. A total of 89 species were identified and assigned to five families: Miridae, Tingidae, Nabidae, Anthocoridae and Reduviidae.

The results showed that the Holarctic zoogeographic region is represented by 15 species, including 12 species (80%) of the family Miridae, 2 species of Nabidae, and 1 species of Anthocoridae. The Trans-Palaearctic realm contains 15 species, primarily Miridae (10 species). The Trans-Eurasian and Western Eurasian zones display the greatest species richness, with 16 species (18%) and 17 species (19%), respectively, where in Miridae constitute 50-65% of the species in these locales. In other regional zones, such as the Holarctic-Oriental, Holarctic-Neotropical, Trans-Palaearctic-Oriental, Western Palaearctic, Eastern Palaearctic, Central Tethyan, Iran-Turan, Euxino-Iran-Turan, Turan-Turkestan-Altai-Gobi, Euxino-Kazakh-Altai-North Turan, Euro-Siberian-Kazakh, European-Kazakh, Central Asian-Kazakh and Turkestan Mountain areas, 1 to 3 species of true bugs were noted, with particular territories showing dominance by Nabidae, Tingidae and Reduviidae.

The gathered information supplements the understanding of the zoogeographic spread of Cimicomorpha in the mountain environments of the Western Tien Shan and can act as a foundation for future exploration of biodiversity and the safeguarding of native species.

Keywords: Cimicomorpha, Western Tien Shan, Heteroptera, Miridae, zoogeography, species diversity, mountain ecosystems

Introduction

The Western Tien Shan is a biogeographically unique area characterized by intricate topography, a high variety of plant communities, and a marked degree of endemism [1, 2]. True bugs (Cimicomorpha) represent a sizable and ecologically vital group of insects performing central roles in terrestrial ecosystems: predatory species regulate populations of invertebrates, including agricultural and forest pests, while plant-eating species impact the structure and dynamics of plant communities [3, 4]. Heteroptera make up a large insect assemblage including over 40,000 species spread across roughly 50 families globally [5, 6].

Research into the true bug fauna of Central Asia has continued for over 170 years [7]. These inquiries led to the discovery of hundreds of true bug species, and their zoogeography was systematically examined and recorded in local catalogues, notably the Catalogue of Palaearctic Heteroptera [8, 9].

Over 1,250 species of Heteroptera are presently known from Central Asia [10, 11], yet despite these advances, the documentation concerning the terrestrial true bugs inhabiting diverse habitats of Kazakhstan and neighboring areas remains scarce. Mountain ranges in the southeastern portion of the region, which constitute significant biogeographical centers [12], are especially underexplored. Examining the extents and distributional trends of Cimicomorpha allows for the recognition of zoogeographical principles, appraisal of ecological specialization levels, and estimation of environmental factors' impact on community organization. Under current circumstances of worldwide climate alteration, growing human impact, and rangeland deterioration [13, 14], such research is particularly pertinent, as ecological shifts might result in range alterations, species decline, and reorganization of biological communities.

The objective of this research is to perform a zoogeographical examination of Cimicomorpha in the Western Tien Shan, to ascertain patterns of species distribution across faunal ranges, and to appraise their part in the composition of mountain ecosystems in the area.

Materials and research methods

Cimicomorpha samples were collected in various habitats of the Western Tien Shan, including mountain meadows, forest edges, shrubs, and coastal areas, between 2023 and 2025. The study area covered a wide range of heights, from about 1300 m above sea level in the foothills to 4236 m at the top of Mount Sairam (Fig.1). Subsequently, the collected species were identified and assigned to 18 zoogeographic areas of the Western Tien Shan in accordance with the classification of Yemelyanov (1974) [15]. This approach made it possible to assess the patterns of species distribution and identify both widespread and regionally limited species.



Figure 1. Field surveys conducted in the territories of the Western Tien Shan

The study area covered a wide range of habitats, including mountain meadows, forest edges, shrub communities, floodplain areas, and coastal areas along watercourses. The descriptive nomenclature of the distribution of species corresponds to the concepts of physical geography, in which the latitudinal axis runs from north to south and reflects climatic conditions, in particular temperature regimes, while the longitudinal axis runs from west to east. In some species, the distribution ranges correspond to the boundaries of certain landscape zones, such as mountain meadows, forest edges, and semi-desert habitats [16]. The geographical distribution analysis was based on modern catalogues and databases of Palearctic Heteroptera [17], as well as on data from previous regional studies. The occurrence and abundance of species were studied using field observation methods on various species of vegetation, including grassy and shrubby communities, as well as on forest edges. 60-80 plants were examined daily at each sampling site and the number of adults, larvae of all ages, and egg clutches were recorded.

Species frequency of occurrence was calculated using the formula (1):

$$F (\%) = 100 \times \frac{P_i}{P} \quad (1)$$

where P_i is the number of recorded individuals of a given species, and P is the total number of all observed individuals.

The relative abundance of species was calculated using the formula (2) [7]:

$$Ar (\%) = 100 \times \frac{K_i}{K} \quad (2)$$

where K_i denotes the number of individuals recorded for a given species, and K represents the total number of individuals recorded during the observations.

Results

As a result of a comprehensive survey of the true bug fauna in the Western Tien Shan, 89 species were determined, belonging to five families: Tingidae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, and Miridae. To evaluate the zoogeographical spread of the species, a biogeographical categorization including 18 faunal zones of the Western Tien Shan was applied (Table 1).

Table 1.

**Zoogeographical distribution of predatory Cimicomorpha species
in the Western Tien Shan**

№	Zoogeographical range	Family	Species	Number
1	Holarctic	Nabidae	<i>Nabis flavomarginatus</i> Scholtz, 1847, <i>Himacerus apterus</i> (Fabricius, 1798)	2
		Anthocoridae	<i>Orius minutus</i> (Linnaeus, 1758)	1
		Miridae	<i>Capsus cinctus</i> (Kolenati, 1845), <i>Chlamydatus pullus</i> (Reuter, 1870), <i>Agnocoris rubicundus</i> (Fallén, 1807), <i>Apolygus lucorum</i> (Meyer-Dur, 1843), <i>Leptopterna dolabrata</i> (Linnaeus, 1758), <i>Lygus rugulipennis</i> Poppius, 1911, <i>Orthocephalus saltator</i> (Hahn, 1835), <i>Orthotylus lenensis</i> Lindberg, 1928, <i>Polymerus brevicornis</i> (Reuter, 1879), <i>Polymerus cognatus</i> (Fieber, 1858), <i>Polymerus unifasciatus</i> (Fabricius, 1794), <i>Trigonotylus caelestialium</i> (Kirkaldy, 1902)	12
2	Holarctic-Oriental	Anthocoridae	<i>Orius niger</i> (Wolff, 1811)	1
3	Holarctic-Neotropical	Miridae	<i>Deraeocoris ruber</i> (Linnaeus, 1758)	1

4	Trans-Palaeartic	Tingidae	<i>Galeatus inermis</i> (Jakovlev, 1876)	1
		Nabidae	<i>Nabis ferus</i> (Linnaeus, 1758)	1
		Anthocoridae	<i>Anthocoris confusus</i> Reuter, 1884, <i>Orius horvathi</i> (Reuter, 1884)	2
		Reduviidae	<i>Coranus subapterus</i> (De Geer, 1773)	1
		Miridae	<i>Deraeocoris punctulatus</i> (Fallén, 1807), <i>Adelphocoris lineolatus</i> (Goeze, 1778), <i>Lygus pratensis</i> (Linnaeus, 1758), <i>Lygus wagneri</i> Remane, 1955, <i>Polymerus nigrita</i> (Fallén, 1807), <i>Plagiognathus chrysantemi</i> (Wolff, 1804), <i>Notostira elongata</i> (Geoffroy, 1785), <i>Stenodema calcarata</i> (Fallén, 1807), <i>Stenodema laevigata</i> (Linnaeus, 1758), <i>Trigonotylus ruficornis</i> (Geoffroy, 1785)	10
5	Trans-Palaeartic-Oriental	Miridae	<i>Lygus gemellatus gemellatus</i> (Herrich-Schäffer, 1835)	1
6	Western Palaeartic	Nabidae	<i>Himacerus mirmicoides</i> (O. Costa, 1834), <i>Pirates hybridus</i> (Scopoli, 1763)	2
		Reduviidae	<i>Rhynocoris iracundus</i> (Poda, 1761)	1
		Miridae	<i>Deraeocoris serenus</i> (Douglas & Scott, 1868), <i>Charagochilus gyllenhalii</i> (Fallén, 1807), <i>Adelphocoris vandalicus</i> (Rossi, 1790), <i>Orthops campestris</i> Linnaeus, 1758, <i>Orthops kalmi</i> (Linnaeus, 1758), <i>Trigonotylus brevipes</i> Jakovlev, 1880	6
7	Eastern Palaeartic	Miridae	<i>Deraeocoris ater</i> Linnaeus, 1758	1

8	Trans-Eurasian	Tingidae	<i>Oncochila simplex</i> (Herrich-Schäffer 1830), <i>Physatocheila smreczynskii</i> China, 1952	2
		Nabidae	<i>Nabis brevis</i> Scholtz, 1847, <i>Nabis limbatus</i> Dahlbom, 1851, <i>Nabis rugosus</i> (Linnaeus, 1758)	3
		Anthocoridae	<i>Anthocoris nemorum</i> (Linnaeus, 1761), <i>Anthocoris pilosus</i> (Jakovlev, 1877), <i>Deraeocoris olivaceus</i> (Fabricius, 1777)	3
		Miridae	<i>Deraeocoris scutellaris</i> (Fabricius, 1794), <i>Cap-sodes gothicus gothicus</i> (Linnaeus, 1758), <i>Chlamydatum pulicarius</i> (Fallén, 1807), <i>Apoly-gus spinolae</i> (Meyer-Dur, 1841), <i>Lygus punc-tatus</i> (Zetterstedt, 1838), <i>Phytocoris insignis</i> Reuter, 1876, <i>Stenodema holsata</i> (Fabricius, 1787), <i>Stenodema virens</i> (Linnaeus, 1767)	8
9	Western Eurasian	Tingidae	<i>Agramma confusum</i> (Puton, 1879), <i>Dictyla lupuli</i> (Herrich-Schäffer, 1837), <i>Lasiacantha capucina</i> Germar, 1837, <i>Tingis reticulata</i> (Her-rich-Schäffer, 1835)	4
		Nabidae	<i>Nabis punctatus punctatus</i> O. Costa, 1847	1
		Reduviidae	<i>Rhynocoris annulatus</i> (Linnaeus, 1758)	1
		Miridae	<i>Deraeocoris ventralis</i> Reuter, 1904, <i>Closteroto-mus biclavatus biclavatus</i> (Herrich-Schäffer, 1835), <i>Liocoris tripustulatus</i> (Fabricius, 1781), <i>Brachycoleus decolor</i> Reuter, 1887, <i>Oncotylus setulosus</i> (Herrich-Schäffer, 1837), <i>Orthoceph-alus brevis</i> (Panzer, 1798), <i>Plagiognathus bi-punctatus</i> Reuter, 1883, <i>Phytocoris incanus</i> Fie-ber, 1864, <i>Phytocoris ulmi</i> (Linnaeus, 1758), <i>Phytocoris varipes</i> Boheman, 1852, <i>Notostira erratica</i> (Linnaeus, 1758)	11
10	Central Tethyan	Tingidae	<i>Catoplatus fulvicornis</i> (Jak., 1890)	1
		Miridae	<i>Psallopsis similis</i> Wagner, 1958	1
11	Iran-Turanian	Tingidae	<i>Tingis leptochila</i> (Bull.)	1
		Nabidae	<i>Himacerus maracandicus</i> (Reuter, 1890)	1
12	Euxino-Iranian-Turani-an	Miridae	<i>Myrmecophyes variabilis</i> Drapolyuk, 1989	1

13	Turan-Turkestan-Al-tai-Gobi	Miridae	<i>Salicarus halimodendri</i> Putshkov, 1977	1
14	Euxino-Kazakh-Al-tai-North Turan	Miridae	<i>Phytocoris issykensis</i> Poppius, 1912	1
15	Euro-Siberian-Kazakh	Reduviidae	<i>Coranus contrarius</i> Reuter, 1881	1
16	European-Kazakh	Tingidae	<i>Galeatus sinuatus</i> (Herrich-Schäffer, 1838)	1
17	Central Asian-Kazakh	Miridae	<i>Dicyphus thoracicus</i> Sharp, 1875, <i>Cyllecoridea decorata</i> (Kiritshenko), <i>Myrmecophyes tibialis</i> Rolfe 1917	3
18	Turkestan Mountain	Nabidae	<i>Nabis nigrovittatus tianshanicus</i> (Kerzhner, 1981)	1

Within the Holarctic zone, 15 true bug species were recorded. The most diverse family is Miridae, shown by 12 species (80% of the total species in this region), such as *Capsus cinctus*, *Chlamydatus pullus*, *Agnocoris rubicundus*, *Apolygus lucorum*, *Leptopterna dolobrata*, *Lygus rugulipennis*, *Orthocephalus saltator*, *Orthotylus lenensis*, *Polymerus brevicornis*, *Polymerus cognatus*, *Polymerus unifasciatus* and *Trigonotylus caelestialium*. These Miridae are largely phytophagous, feeding on plant sap, and display high ecological plasticity, allowing them to occupy diverse habitats from lowland steppes to montane ecosystems, some species also act as secondary predators, regulating populations of smaller insects [18]. The family Nabidae includes 2 species (*Nabis flavomarginatus* and *Himacerus apterus*), making up 14% of the total species in the zone, whereas Anthocoridae is present with just one species (*Orius minutus*), tiny predatory bugs that pursue aphids and ticks in plant microsites unavailable to larger predators [19].

In the Holarctic-Oriental region, just one predatory species, *Orius niger* (Anthocoridae), was recorded, whereas in the Holarctic-Neotropical region, one species of the family Miridae *Deraeocoris ruber*, was observed. Across the Trans-Palaeartic expanse, 15 species belonging to 5 families were ascertained. The family Miridae comprised 10 species, such as *Deraeocoris punctulatus*, *Adelphocoris lineolatus*, *Lygus pratensis*, *Lygus wagneri*, *Polymerus nigrita*, *Plagiognathus chrysantemi*, *Notostira elongata*, *Stenodema calcarata*, *Stenodema laevigata* and *Trigonotylus ruficornis*. Miridae in this region are mainly phytophagous, but their ability to occupy different plant communities allows them to thrive across large geographic ranges [20]. Nabidae (*Nabis fesus*), Reduviidae (*Coranus subapterus*), Tingidae (*Galeatus inermis*) and Anthocoridae (*Anthocoris confusus*, *Orius horvathi*) finalize the local life forms. Nabidae and Reduviidae are active predators, contributing to population control of smaller insects, while Tingidae are strictly phytophagous and closely associated with specific host plants, often reflecting the composition of the vegetation [21]. In the Trans-Palaeartic-Oriental territory, a solitary Miridae species, *Lygus gemellatus*, was recorded.

In the Western Palaeartic region, 9 species belonging to 3 families were recorded. The Miridae family predominated with six species, comprising *Deraeocoris serenus*, *Charagochilus gyllenhalii*, *Adelphocoris vandalicus*, *Orthops campestris*, *Orthops kalmi* and *Trigonotylus brevipes*. The Nabidae family was shown by two species (*Himacerus mirmicoides* and *Pirates hybridus*), and Reduviidae by just one species (*Rhynocoris iracundus*). Again, Miridae species are phytophagous and ecologically flexible, Nabidae and Reduviidae are predators regulating insect populations and

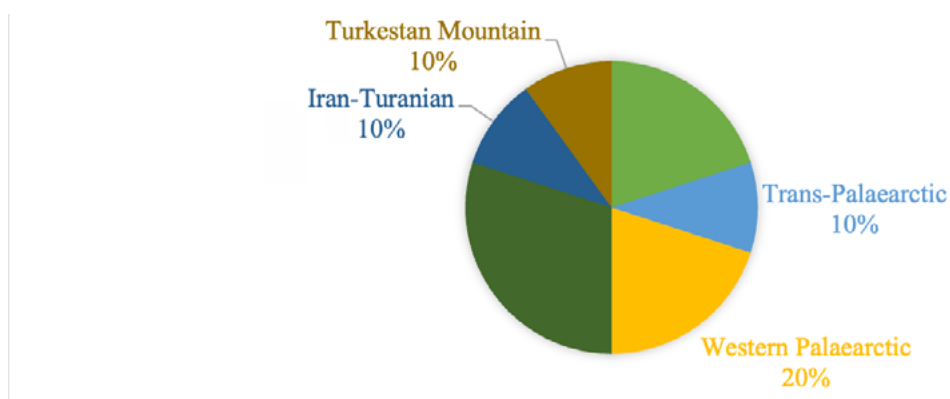
this structure mirrors their functional parts in these habitats [18, 22]. In the Eastern Palaearctic area, one species of Miridae (*Deraeocoris ater*) was recorded.

In the Trans-Eurasian region, 16 species belonging to 4 families were found. The family Miridae comprised eight species (*Deraeocoris scutellaris*, *Capsodes gothicus*, *Chlamydatus pulicarius*, *Apolygus spinolae*, *Lygus punctatus*, *Phytocoris insignis*, *Stenodema holsata* and *Stenodema virens*), making up 50% of the local fauna. The families Nabidae (*Nabis brevis*, *Nabis limbatus* and *Nabis rugosus*) and Anthocoridae (*Anthocoris nemorum*, *Anthocoris pilosus* and *Deraeocoris olivaceus*) were represented by three species apiece, while Tingidae included two species (*Oncochila simplex* and *Physatocheila smreczynskii*).

In the Western Eurasian region, 17 species belonging to four families were recorded. The Miridae family was the most species-rich with 11 species, followed by Tingidae with four species, and Nabidae and Reduviidae with one species each.

In the Central Tethyan, Iran-Turan, Euxino-Iran-Turan, Turan-Turkestan-Alatau-Gobi, Euxino-Kazakh-Altai-North Turan, Euro-Siberian-Kazakh, European-Kazakh, Central Asian-Kazakh, and Turkestan Mountain region, between one and three species were recorded. In these locales, the Miridae family is prevalent, apart from some specific zones where Tingidae, Nabidae, or Reduviidae are prevalent.

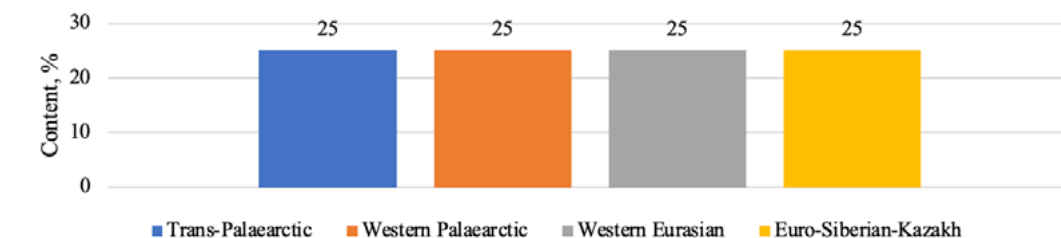
Figure 2 demonstrates the zoogeographical spread of species from the Nabidae family in the Western Tien Shan. The research showed that members of this family are present in six zoogeographical zones. The greatest species diversity was seen in the Trans-Eurasian region, where three species were noted: *Nabis brevis*, *Nabis limbatus* and *Nabis rugosus*.



№	Zoogeographical range	Number of species
1	Holarctic	2
2	Trans-Palaearctic	1
3	Western Palaearctic	2
4	Trans-Eurasian	3
5	Iran-Turanian	1
6	Turkestan Mountain	1
Total		11

Figure 1. Zoogeographical distribution of Nabidae species (Cimicomorpha) in the Western Tien Shan

The Holarctic region is represented by two species, *Nabis flavomarginatus* and *Himacerus apterus*, which are broadly spread and characteristic for the temperate zone's wildlife. Within the Western Palaearctic region, two species were likewise noted: *Himacerus mirmicoides* and *Pirates hybridus*. In the Trans-Palaearctic region, a single species, *Nabis fesus*, was spotted, which has a broad distribution throughout the Palaearctic.

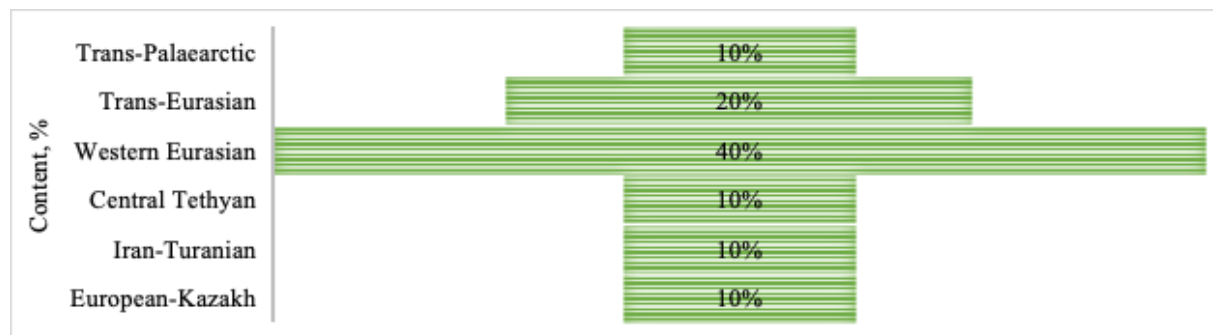


№	Zoogeographical range	Number of species
1	Trans-Palaearctic	1
2	Western Palaearctic	1
3	Western Eurasian	1
4	Euro-Siberian-Kazakh	1
Total		4

Figure 2. Zoogeographical distribution of Reduviidae species (Cimicomorpha) in the Western Tien Shan

Regarding the family Reduviidae, four species were recorded in the Western Tien Shan, distributed across four zoogeographical areas (Figure 2). In the Trans-Palaearctic zone, *Coranus subapterus* was observed. The Western Palaearctic domain is represented by *Rhynocoris iracundus*, typical of the European fauna and nearby locales. In the Western Eurasian area, *Rhynocoris annulatus* was found. The Euro-Siberian-Kazakh region is represented by *Coranus contrarius*, linked to the temperate and continental conditions of Eurasia.

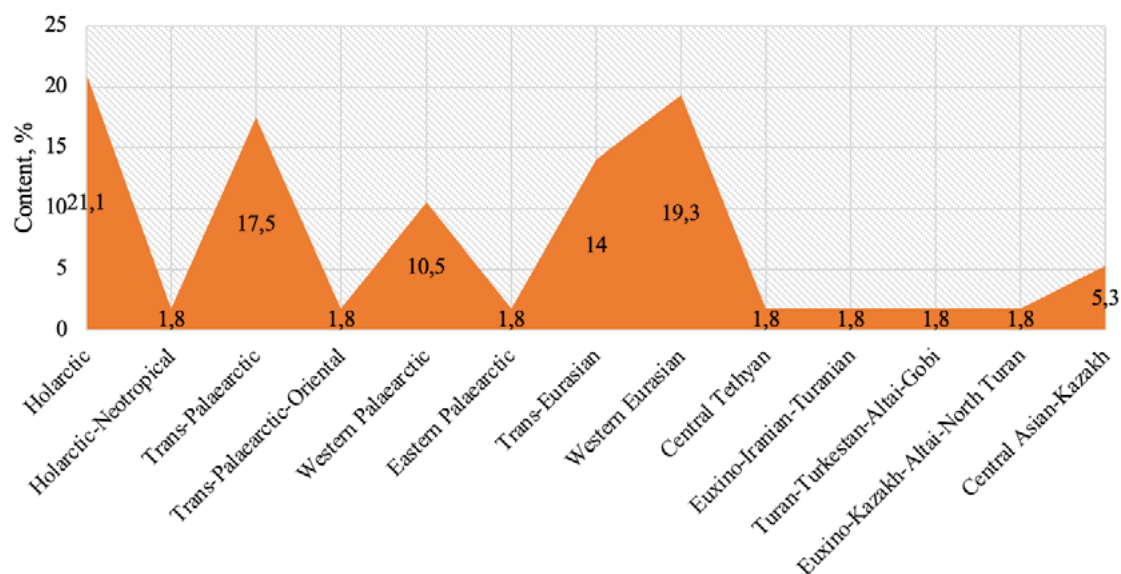
For the family Tingidae, ten species were recorded in the Western Tien Shan, distributed among six zoogeographical regions (Figure 3). The highest variety of Tingidae was seen in the Western Eurasian area (four species), making up 40 % of all noted species. Two species (20%) were recorded in the Trans-Eurasian region, whereas each of the remaining zoogeographical regions contained only one species, representing 10% of the total.



№	Zoogeographical range	Number of species
1	Trans-Palaeartic	1
2	Trans-Eurasian	2
3	Western Eurasian	4
4	Central Tethyan	1
5	Iran-Turanian	1
6	European-Kazakh	1
Total		10

Figure 3. Zoogeographical distribution of Tingidae species (Cimicomorpha) in the Western Tien Shan

Concerning the family Miridae, 57 species were recorded in the Western Tien Shan, spread across 13 zoogeographical regions (Figure 4). The greatest species variety was seen in the Holarctic regions (12 species, 21 % of the sum), the Western Eurasian regions (11 species, 19 %), and the Trans-Palaeartic zone (10 species, 18 %). Reduced species variety defined local and territorial areas, such as the Holarctic-Neotropical, Trans-Palaeartic-Oriental, Eastern Palaeartic, Central Tethyan, Euxino-Iranian-Turanian, Turan-Turkestan-Alatai-Gobi and Euxino-Kazakh-Altai-North Turan areas, each featuring just one species (2 % of the sum), while the Central Asian-Kazakh area contained three species.

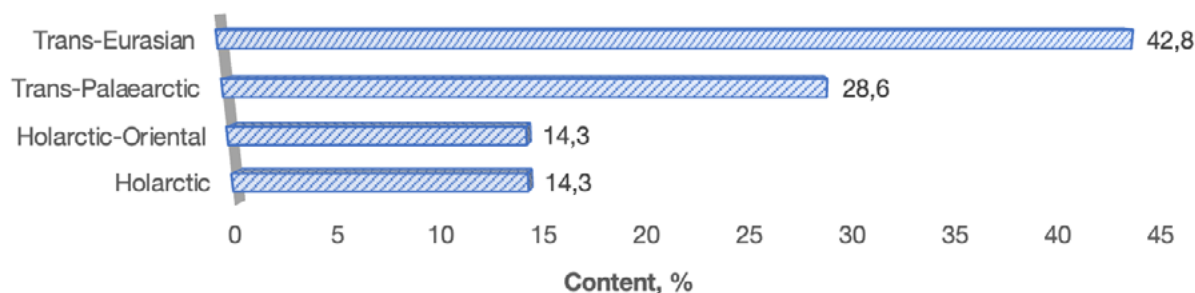


№	Zoogeographical range	Number of species
1	Holarctic	12
2	Holarctic-Neotropical	1
3	Trans-Palaearctic	10
4	Trans-Palaearctic-Oriental	1
5	Western Palaearctic	6
6	Eastern Palaearctic	1
7	Trans-Eurasian	8
8	Western Eurasian	11
9	Central Tethyan	1
10	Euxino-Iranian-Turanian	1
11	Turan-Turkestan-Altai-Gobi	1
12	Euxino-Kazakh-Altai-North Turan	1
13	Central Asian-Kazakh	3
Total		57

Figure 4. Zoogeographical distribution of Miridae species (Cimicomorpha) in the Western Tien Shan

The resulting zoogeographical distribution suggests that the bulk of the Miridae in the Western Tien Shan comprises species with broad dispersal areas, able to adjust to the area's varied environmental and weather conditions.

Figure 5 shows the zoogeographical layout of Anthocoridae species in the Western Tien Shan.



№	Zoogeographical range	Number of species
1	Holarctic	1
2	Holarctic-Oriental	1
3	Trans-Palaeartic	2
4	Trans-Eurasian	3
Total		7

Figure 5. Zoogeographical distribution of Anthocoridae species (Cimicomorpha) in the Western Tien Shan

The largest proportion of species pertains to the Trans-Eurasian region, which contains three species, making up 42.8 % of all documented members of the family. A notable segment of the fauna is also comprised of species from the Trans-Palaeartic region, including two species (28.6 %). Species of Holarctic and Holarctic-Oriental ranges are represented by one species each.

Discussion

The performed zoogeographical analysis of Cimicomorpha (Heteroptera) in the Western Tien Shan uncovered a complex faunal composition, made up of a mixture of broadly spread and locally confined species. This spatial arrangement mirrors the general template of entomofauna in the temperate section of the Palaeartic. Comparable layouts have been noted in numerous Palaeartic territories, including Central Asia, within other examined terrestrial true bug species. For example, in Uzbekistan, zoogeographical assessments of Heteroptera have indicated that a prominent segment of the fauna comprises Holarctic, Trans-Palaeartic, and Trans-Eurasian species. Similar zoogeographical frameworks with a majority of Holarctic and Trans-Palaeartic components have been recorded in other Central Asian faunas [23]. This aligns with widely dispersed species, encompassing species of Nabidae, Miridae, Reduviidae and other families, which is mainly ascribed to their ecological adaptability [24, 25].

The results of our study also confirm that Miridae dominate in species richness in the Western Tien Shan, which is consistent with data from other Palaeartic regions [26], where this family represents the most diverse group among Heteroptera. The dominance of Miridae in most zoogeographical regions may be associated with the high diversity of herbaceous and shrub vegetation in the Western Tien Shan. Most representatives of this family are phytophagous and exhibit a close association with particular host plants. The mosaic distribution of mountain meadows, shrub communities, forest edges, and endemic plant assemblages creates a wide range of ecological niches that promote species diversification and persistence of Miridae. Such trophic specialization combined with ecological plasticity likely explains the predominance of

this family in the studied region. The prevalence of Miridae in species richness matches trends noted for the Palearctic region, where this family represents the largest fraction of Cimicomorpha diversity [17, 27].

For instance, in the Kharkiv fauna (Ukraine), Miridae was similarly the richest family in terms of species compared to Nabidae and Tingidae [28, 29]. The occurrence of the families Nabidae, Anthocoridae, and Reduviidae across multiple zoogeographical areas indicates their broad ecological adaptability to diverse environmental conditions. This is consistent with data on Heteroptera in Southeastern Kazakhstan, where representatives of these families were found to be widely distributed and play an important role in regulating the populations of other insects within natural communities [30].

It is also worth noting the diversity of zoogeographical realms represented in our material, including the Holarctic, Trans-Palaeartic, West-Eurasian, Trans-Eurasian, and several regional areas (e.g., Iran-Turanian, Central Tethyan, etc.). This indicates that the Western Tien Shan lies within the contact zone of several major zoogeographical complexes, creating unique conditions for the formation of a complex faunal structure, similar to those observed in adjacent parts of Central Asia and the Palaeartic. The predominance of species with wide-ranging distributions (Holarctic, Trans-Palaeartic and Trans-Eurasian) suggests their resilience to diverse climatic factors.

Conclusion

During the zoogeographical study of Cimicomorpha in the Western Tien Shan, a total of 89 species belonging to five families: Tingidae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, and Miridae were recorded. The zoogeographical analysis revealed that the most diverse realms are the Holarctic, Trans-Palaeartic, Trans-Eurasian and Western-Eurasian, which harbor the highest number of species. In local or regional realms, such as the Central Tethyan, Iran-Turanian and Turkestan Mountain, species richness was low, ranging from one to three species, reflecting the influence of historical, geographical, and ecological factors, including altitude, habitat species and climatic conditions.

The analysis of family-level spread demonstrated that Miridae are predominant across most domains, apart from particular local areas where Tingidae, Nabidae, or Reduviidae are dominant. Members of the Nabidae family were noted in six regions, with maximum species richness seen in the Trans-Eurasian.

These outcomes corroborate existing theories in Cimicomorpha zoogeography, suggesting that widely distributed species constitute the «base» of local fauna, while endemic species are confined to particular settings and fashioned by historical-geographical hindrances. The information concerning species makeup and zoogeographical spread of Cimicomorpha in the Western Tien Shan offers a useful starting point for forthcoming biodiversity tracking and the evaluation of the environmental condition of mountain biomes.

Author Contributions

G.E.M., P.A.E., M.B.Zh. and G.D.A. - conceptualization; **G.E.M., P.A.E., M.B.Zh.** – scientific design development; **G.E.M., P.A.E., M.B.Zh. and G.D.A.** – implementation of the declared scientific research.

Funding

This research was supported by program BR24993060 «Information system development for wild animals' cadastre maintaining of Western Tien Shan for the conservation and sustainable use purposes».

Conflicts of Interest

Authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards

This article does not contain a description of studies performed by the authors involving people or using animals as objects.

References

1. Nowak A, Świerszcz S, Nowak S, Plášek V, Nobis A, Klichowska E, Nobis M. Diversity, distribution, and classification of chasmophytic vegetation in the central Asian biodiversity hot-spot: alpine belt of the Eastern Pamir-Alai and Western Tien Shan mountains. *Acta Soc Bot Pol.* 2022;91(911):1-25. <https://doi.org/10.5586/asbp.911>
2. Zhang HX, Zhang ML. Spatial patterns of species diversity and phylogenetic structure of plant communities in the Tianshan Mountains, arid Central Asia. *Front Plant Sci.* 2017;8:2134. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02134>
3. Ye F, Kment P, Rédei D, Luo JY, Wang YH, Kuechler SM, Zhang WW, Chen PP, Wu HY, Wu YZ, Sun XY, Ding L, Wang YR, Xie Q. Diversification of the phytophagous lineages of true bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) shortly after that of the flowering plants. *Cladistics.* 2022;38(4):403-28. <https://doi.org/10.1111/cla.12501>
4. Буторова ИИ, Голуб ВБ. Состав и экологическая структура фауны полужесткокрылых насекомых (Heteroptera) Центрально-Черноземного государственного заповедника имени профессора В. В. Алехина. *Экосистемы.* 2019;(19)49:157-66. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/sostav-i-ekologicheskaya-struktura-fauny-poluzhestkokrylyh-nasekomyh-heteroptera-tsentralno-chernozemnogo-gosudarstvennogo-zapovednika-imeni-professora-v-v-alehina.pdf> [in rus.]
5. Henry TJ. Biodiversity of Heteroptera. In: Cardé RT, Minks AK, editors. *Insect biodiversity: science and society.* 1st ed. Chichester: Wiley Blackwell; 2017. p. 279-335. <https://doi.org/10.1002/9781118945568.ch10>
6. Du SS, Lin S, Shih C, Ren D, Yao Y. Heteroptera-True Bugs. In: Shih CK, Ren D, editors. *Rhythms of Insect Evolution: Evidence from the Jurassic and Cretaceous in Northern China.* Chichester: Wiley Blackwell; 2019. p. 225-68. <https://doi.org/10.1002/9781119427957.ch17>
7. Gandjaeva L, Abdullaev I, Iskandarov A, Allabergenova K, Yusupova S, Narimanova G, Yusupboev E, Ibragimova S, Begliev S, Bobojonova K. A zoogeographical analysis of true bugs (Insecta, Heteroptera) from Uzbekistan. *ZooKeys.* 2023;1163:121-42. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1163.99414>
8. Schaefer CW. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region vol. 6, Supplement. *Ann Entomol Soc Am.* 2013;106(5):670-1. <https://doi.org/10.1603/RAN13001>
9. Carapezza A, Mifsud D. New records of true bugs (Hemiptera, Heteroptera) from the Maltese Islands. *Bull Entomol Soc Malta.* 2015;7:27-50. <https://doi.org/10.17387/BULLENT-SOCMALTA.2015.03>

10. Esenbekova PA, Nurushev MZ, Homziak J. Aquatic Hemiptera (Heteroptera) of Kazakhstan, with notes on life history, ecology and distribution. *Zootaxa*. 2015;4013(2):195-206. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4013.2.2>
11. Lebedeva NI, Kanyukova EV, Musaev DM, Mirzayeva GS, Valieva MN, Kholmatov BR. The semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) of Uzbekistan. *Acta Biol Sibir*. 2024;10:471-88. <https://doi.org/10.5281/zenodo.11219323>
12. Рыспеков ТР. Пространственно-временное состояние экосистем и их сочетание в юго-восточной части Казахстана на нынешний период. *Гидрометеорология и экология*. 2019;4(95):84-95. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/prostranstvenno-vremennoe-sostoyanie-ekosistem-i-ih-sochetanie-v-yugo-vostochnoy-chasti-kazahstana-na-nyneshniy-period.pdf> [in rus.]
13. Liu Y, Zhang Z, Tong L, Khalifa M, Wang Q, Gang C, Wang Z, Li J, Sun Z. Assessing the effects of climate variation and human activities on grassland degradation and restoration across the globe. *Ecol Indic*. 2019;106:105504. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105504>
14. Болев БК, Киштанов БВ. Устойчивость лесопастбищ в современных условиях изменения климата. *Научно-агрономический журнал*. 2021;3(114):32-8. <https://doi.org/10.34736/FNC.2021.114.3.003.32-38> [in rus.]
15. Guskova EV, Efimov DA. Areal characteristics of the Leaf beetles fauna (Coleoptera, Chrysomelidae) of Kuznetsk-Salair mountain region (Russia, Siberia). *Ukr J Ecol*. 2018;8(4):481-3. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/areal-characteristics-of-the-leaf-beetles-fauna-coleoptera-chrysomelidae-of-kuznetsk-salair-mountain-region-russia-siberia.pdf>
16. Lopatin IK, Meleshko JE. Zoogeography (with electronic application). Minsk: BSU; 2016. p. 53-5. <https://elib.bsu.by/handle/123456789/158509>
17. Aukema B, Rieger C, Rabitsch W. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region 6: Supplement. Amsterdam: Netherlands Entomological Society; 2013. 653 p. <https://www.pemberleybooks.com/product/catalogue-of-the-heteroptera-of-the-palaearctic-region-6-supplement/25071/>
18. Ferreira PSF, Henry TJ, Coelho LA. Plant Bugs (Miridae). In: Panizzi A, Grazia J, editors. True Bugs (Heteroptera) of the Neotropics. *Entomology in Focus*, vol 2. Dordrecht: Springer; 2015. p. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9861-7_10
19. Çerçi B, Koçak Ö. Contribution to the knowledge of Heteroptera (Hemiptera) fauna of Turkey. *J Insect Biodivers*. 2016;4(15):1-18. <https://doi.org/10.12976/jib/2016.4.15>
20. Oh M, Kim S, Lee S. Revisiting the phylogeny of the family Miridae (Heteroptera: Cimicomorpha), with updated insights into its origin and life history evolution. *Mol Phylogenet Evol*. 2023;184:107796. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2023.107796>
21. Shatalova EI. Feeding behavior of predatory bug *Nabis ferus* (Heteroptera: Nabidae) toward aphids. *Plant Protect News*. 2024;107(2):99-102. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2024-107-2-16593>
22. Konstantinov FV, Neimorovets VV, Korzeev AI. Review of *Campylomma* from Russia, Caucasus, and Central Asia with description of two new species (Hemiptera: Heteroptera: Miridae: Phylinae). *Entomologica Americana*. 2016;122(1-2):115-55. <https://doi.org/10.1664/15-RA-046>
23. Vinokurov NN. Zoogeographic relationships between true bugs (Heteroptera) in the fauna of relict forest-steppes of the middle taiga subzone of Yakutia and the steppes of southern East Siberia. *Russ Entomol J*. 2024;33(1):22-38. <https://doi.org/10.15298/rusentj.33.1.03>
24. Gandjaeva L, Abdullaev I, Razzakov K, Allabergenova K. Climate impact on the population dynamics of Cruciferae Bugs (Heteroptera, Pentatomidae, Eurydema). *Eurasia J Biosci*. 2020;14:3349-58. https://www.researchgate.net/profile/Lola-Gandjaeva/publication/344338775_

Climate_impact_on_the_population_dynamics_of_Cruciferae_Bugs_Heteroptera_Pentatomidae_Eurydema/links/5f69e752a6fdcc00863444e3/Climate-impact-on-the-population-dynamics-of-Cruciferae-Bugs-Heteroptera-Pentatomidae-Eurydema.pdf

25. Kryzhanovsky OL. Composition and distribution of insect faunas of the world. 4. Holarctic Kingdom. Entomol Rev. 2022;102:1345-1442. <https://doi.org/10.1134/S0013873822090056>

26. Daminova D, Ganieva Z, Mirzaeva G. Capsid bug (Heteroptera, Miridae) of Uzbekistan. Norwegian J Dev Int Sci. 2020;40-1:3-7. file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/capsid-bug-heteroptera-miridae-of-uzbekistan.pdf

27. Konstantinov FV, Hosseini R. Review of the genus Salicarus (Hemiptera, Heteroptera, Miridae). ZooKeys. 2024;1211:57. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1211.129660>

28. Fedyay I, Markina T. Ecological and faunistic review of the true bugs of infraorder Cimicomorpha (Heteroptera) of urban cenoses of Kharkiv City (Ukraine). Zoodiversity, Zoology, Animal Diversity. 2020;54(2):133-46. <http://dspace.hnpu.edu.ua/handle/123456789/5949>

29. Fedyay IA, Markina TY, Putchkov AV. Ecological and faunistic survey of the true bugs of the infraorder Pentatomomorpha (Hemiptera) in the urban cenoses of Kharkiv City (Ukraine). Biosyst Divers. 2018;26(4):263-8. <https://doi.org/10.15421/011840>

30. Kenzhegaliev AM, Esenbekova PA, Myrkasymova AC, Zhaksybaev MB. Arboreal Heteroptera (Hemiptera) of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan. Exp Biol. 2023;94(1):134-42. <https://doi.org/10.26577/eb.2023.v94.i1.012>

Зоогеографический анализ клопов (Cimicomorpha, Heteroptera) Западного Тянь-Шаня

**Г.Е. Марденова*¹, П.А. Есенбекова², М.Б. Жаксыбаев³,
Г.Д. Анарбекова⁴**

*^{1,3}Казахский национальный педагогический университет им. Абая,
Алматы, Казахстан*

*^{1,2}Институт зоологии, Комитет науки Министерства науки
и высшего образования Республики Казахстан, Алматы, Казахстан*

⁴Казахский национальный женский педагогический университет, Алматы, Казахстан

Аннотация. В статье представлен зоогеографический анализ клопов (Cimicomorpha, Heteroptera) Западного Тянь-Шаня. Образцы были собраны на нескольких участках Западного Тянь-Шаня, от предгорий до высокогорных зон. Собранные виды были отнесены к 18 зоогеографическим ареалам на основе их распределения. Всего выявлено 89 видов, относящихся к пяти семействам: Miridae, Tingidae, Nabidae, Anthocoridae и Reduviidae. Результаты показали, что голарктический зоогеографический ареал представлен 15 видами, включая 12 видов (80%) семейства Miridae, 2 вида семейства Nabidae и 1 вид семейства Anthocoridae. Транспалеарктический ареал включает 15 видов, с преобладанием Miridae (10 видов). В трансевразийском и западноевразийском ареалах зарегистрировано наибольшее видовое разнообразие - 16 видов, что составляет 18% и 17 видов (19%) соответственно, при этом семейство Miridae составляет 50-65% видов ареала. В остальных локальных ареалах - таких как Голарктико-ориентальный, Голарктико-неотропический, Транспалеарктико-ориентальный, Западнопалеарктический, Восточнопалеарктический, Среднететийский, Ирано-Туранский, Эвксинско-иран-туранский, Туранско-туркестанско-алатау-гобийский, Эвксинско-Казахстанско-Алтайско-Северотуранский, Евро-

Сибирско-Казахстанский, Европейско-Казахстанский, Среднеазиатско-Казахстанский, - а также в горах Туркестанского хребта встречается от 1 до 3 видов клопов, с отдельным преобладанием Nabidae, Tingidae и Reduviidae в некоторых ареалах. Полученные данные дополняют сведения о зоогеографическом распределении клопов Cimicomorpha в горных экосистемах Западного Тянь-Шаня и могут служить базой для дальнейших исследований биоразнообразия и охраны эндемичных видов.

Ключевые слова: Cimicomorpha, Западный Тянь-Шань, Heteroptera, Miridae, зоогеография, видовое разнообразие, горные экосистемы

Батыс Тянь-Шань қандалаларын (Cimicomorpha, Heteroptera) зоогеографиялық талдау

**Г.Е. Марденова*¹, П.А. Есенбекова², М.Б. Жаксыбаев³,
Г.Д. Анарбекова⁴**

^{1,3}Абай атындағы қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

^{1,2}Зоология институты, Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім
министрлігінің Ғылым комитеті, Алматы, Қазақстан

⁴Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан

Аңдатпа. Мақалада Батыс Тянь-Шань қандалаларының (Cimicomorpha, Heteroptera) зоогеографиялық талдауы берілген. Қандала түрлері Батыс Тянь-Шань аймағының бірнеше аумағынан, аласа таулы белдеулерден бастап жоғары таулы аймақтарға дейін жиналды. Қандалалардың жиналған түрлері таралуына негізделі отырып, 18 зоогеографиялық аймаққа топтастырылды. Барлығы 89 түр жиналып, реттік және түрлік деңгейге дейін анықталды және олар бес тұқымдасқа жатқызылды: Miridae, Tingidae, Nabidae, Anthocoridae және Reduviidae. Алынған нәтижелерге сәйкес, голарктикалық зоогеографиялық таралу аймағында 15 түр анықталды, оның ішінде 12 түр (80%) Miridae тұқымдасынан, 2 түрі Nabidae тұқымдасынан және 1 түрі Anthocoridae тұқымдасынан болды. Транспалеарктикалық таралу аймағында да 15 түр тіркелді, олардың көпшілігі Miridae (10 түр) тұқымдасынан болды. Трансеуразиялық және Батысеуразиялық таралу аймақтарында әртүрлі түрлер байқалады, олардың 16 түрі немесе 18% аталған бірінші аймаққа тиесілі болса, 17 түр (19%) Батысеуразиялық аймақтан анықталды және оның ішінде Miridae отбасына жататын түрлердің мөлшері 50–65%-ды құрады. Басқа да таралу аймақтарында мысалы, Голарктикалық-ориентальды, Голарктикалық-неотропикалық, Транспалеарктикалық-ориентальды, Батыспалеарктикалық, Шығыспалеарктикалық, Ортатетийлік, Иран-тұран, Евксинді-иран-тұран, Тұран-түркістан-алатау-гобийлік, Евксинді-қазақстандық-алтай-солтүстік тұран, Еуросібірлік-қазақстандық, Еуропалық-қазақстандық, Ортаазиялық-қазақстандық және Түркістан тауларында 1–3 қандала түрлері кездесті, соның ішінде кейбір аймақтарда Nabidae, Tingidae және Reduviidae тұқымдастары басым болды. Аталған мәліметтер Батыс Тянь-Шань таулы экожүйелеріндегі қандалалардың (Cimicomorpha) зоогеографиялық таралуын толықтырады және биоәртүрлілікті зерттеу мен эндемдік түрлерді қорғауға арналған басқа да зерттеулер үшін негіз бола алады.

Түйін сөздер: Cimicomorpha, Батыс Тянь-Шань, Heteroptera, Miridae, зоогеография, түр құрамы, таулы экожүйе

References

1. Nowak A, Świerszcz S, Nowak S, Plášek V, Nobis A, Klichowska E, Nobis M. Diversity, distribution, and classification of chasmophytic vegetation in the central Asian biodiversity hotspot: alpine belt of the Eastern Pamir-Alai and Western Tian Shan mountains. *Acta Soc Bot Pol.* 2022;91(911):1-25. <https://doi.org/10.5586/asbp.911>
2. Zhang HX, Zhang ML. Spatial patterns of species diversity and phylogenetic structure of plant communities in the Tianshan Mountains, arid Central Asia. *Front Plant Sci.* 2017;8:2134. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02134>
3. Ye F, Kment P, Rédei D, Luo JY, Wang YH, Kuechler SM, Zhang WW, Chen PP, Wu HY, Wu YZ, Sun XY, Ding L, Wang YR, Xie Q. Diversification of the phytophagous lineages of true bugs (Insecta: Hemiptera: Heteroptera) shortly after that of the flowering plants. *Cladistics.* 2022;38(4):403-28. <https://doi.org/10.1111/cla.12501>
4. Butorova II, Golub VB. A composition and ecological structure of fauna of Hemiptera insects (Heteroptera) of Professor V. V. Alekhin Central Black Soil State Reserve (Kursk Region). *Ekosistemy.* 2019;(19)49:157-66. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/sostav-i-ekologicheskaya-struktura-fauny-poluzhestkokrylyh-nasekomyh-heteroptera-tsentralno-chernozem-nogo-gosudarstvennogo-zapovednika-imeni-professora-v-v-alehina.pdf> [in rus.]
5. Henry TJ. Biodiversity of Heteroptera. In: Cardé RT, Minks AK, editors. *Insect biodiversity: science and society*. 1st ed. Chichester: Wiley Blackwell; 2017. p. 279-335. <https://doi.org/10.1002/9781118945568.ch10>
6. Du SS, Lin S, Shih C, Ren D, Yao Y. Heteroptera–True Bugs. In: Shih CK, Ren D, editors. *Rhythms of Insect Evolution: Evidence from the Jurassic and Cretaceous in Northern China*. Chichester: Wiley Blackwell; 2019. p. 225-68. <https://doi.org/10.1002/9781119427957.ch17>
7. Gandjaeva L, Abdullaev I, Iskandarov A, Allabergenova K, Yusupova S, Narimanova G, Yusupboev E, Ibragimova S, Begliev S, Bobojonova K. A zoogeographical analysis of true bugs (Insecta, Heteroptera) from Uzbekistan. *ZooKeys.* 2023;1163:121-42. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1163.99414>
8. Schaefer CW. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region vol. 6, Supplement. *Ann Entomol Soc Am.* 2013;106(5):670-1. <https://doi.org/10.1603/RAN13001>
9. Carapezza A, Mifsud D. New records of true bugs (Hemiptera, Heteroptera) from the Maltese Islands. *Bull Entomol Soc Malta.* 2015;7:27-50. <https://doi.org/10.17387/BULLENT-SOCMALTA.2015.03>
10. Esenbekova PA, Nurushev MZ, Homziak J. Aquatic Hemiptera (Heteroptera) of Kazakhstan, with notes on life history, ecology and distribution. *Zootaxa.* 2015;4013(2):195-206. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4013.2.2>
11. Lebedeva NI, Kanyukova EV, Musaev DM, Mirzayeva GS, Valieva MN, Kholmatov BR. The semiaquatic bugs (Heteroptera: Gerromorpha) of Uzbekistan. *Acta Biol Sibir.* 2024;10:471-88. <https://doi.org/10.5281/zenodo.11219323>
12. Ryspekov TR. Spatial-temporal condition of ecosystems and their combination in the southeastern part of kazakhstan in the current period. *Gidrometeorol Ekol.* 2019; 4(95): 84-95. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/prostranstvenno-vremennoe-sostoyanie-ekosistem-i-ih-sochetanie-v-yugo-vostochnoy-chasti-kazahstana-na-nyneshniy-period.pdf> [in rus.]
13. Liu Y, Zhang Z, Tong L, Khalifa M, Wang Q, Gang C, Wang Z, Li J, Sun Z. Assessing the effects of climate variation and human activities on grassland degradation and restoration across the globe. *Ecol Indic.* 2019;106:105504. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105504>

14. Bolaev BK, Kishtanov BV. Sustainability of Forest Pastures in a Changing Climate Contemporary Conditions. *Nauchno-Agronom Zh.* 2021;3(114):32-8. <https://doi.org/10.34736/FNC.2021.114.3.003.32-38> [in rus.]
15. Guskova EV, Efimov DA. Areal characteristics of the Leaf beetles fauna (Coleoptera, Chrysomelidae) of Kuznetsk-Salair mountain region (Russia, Siberia). *Ukr J Ecol.* 2018;8(4):481-3. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/areal-characteristics-of-the-leaf-beetles-fauna-coleoptera-chrysomelidae-of-kuznetsk-salair-mountain-region-russia-siberia.pdf>
16. Lopatin IK, Meleshko JE. Zoogeography (with electronic application). Minsk: BSU; 2016. p. 53-5. <https://elib.bsu.by/handle/123456789/158509>
17. Aukema B, Rieger C, Rabitsch W. Catalogue of the Heteroptera of the Palaearctic Region 6: Supplement. Amsterdam: Netherlands Entomological Society; 2013. 653 p. <https://www.pemberleybooks.com/product/catalogue-of-the-heteroptera-of-the-palaearctic-region-6-supplement/25071/>
18. Ferreira PSF, Henry TJ, Coelho LA. Plant Bugs (Miridae). In: Panizzi A, Grazia J, editors. True Bugs (Heteroptera) of the Neotropics. *Entomology in Focus*, vol 2. Dordrecht: Springer; 2015. p. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9861-7_10
19. Çerçi B, Koçak Ö. Contribution to the knowledge of Heteroptera (Hemiptera) fauna of Turkey. *J Insect Biodivers.* 2016;4(15):1-18. <https://doi.org/10.12976/jib/2016.4.15>
20. Oh M, Kim S, Lee S. Revisiting the phylogeny of the family Miridae (Heteroptera: Cimicomorpha), with updated insights into its origin and life history evolution. *Mol Phylogenet Evol.* 2023;184:107796. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2023.107796>
21. Shatalova EI. Feeding behavior of predatory bug *Nabis ferus* (Heteroptera: Nabidae) toward aphids. *Plant Protect News.* 2024;107(2):99-102. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2024-107-2-16593>
22. Konstantinov FV, Neimorovets VV, Korzeev AI. Review of *Campylomma* from Russia, Caucasus, and Central Asia with description of two new species (Hemiptera: Heteroptera: Miridae: Phyllinae). *Entomologica Americana.* 2016;122(1-2):115-55. <https://doi.org/10.1664/15-RA-046>
23. Vinokurov NN. Zoogeographic relationships between true bugs (Heteroptera) in the fauna of relict forest-steppes of the middle taiga subzone of Yakutia and the steppes of southern East Siberia. *Russ Entomol J.* 2024;33(1):22-38. <https://doi.org/10.15298/rusentj.33.1.03>
24. Gandjaeva L, Abdullaev I, Razzakov K, Allabergenova K. Climate impact on the population dynamics of Cruciferae Bugs (Heteroptera, Pentatomidae, Eurydema). *Eurasia J Biosci.* 2020;14:3349-58. https://www.researchgate.net/profile/Lola-Gandjaeva/publication/344338775_Climate_impact_on_the_population_dynamics_of_Cruciferae_Bugs_Heteroptera_Pentatomidae_Eurydema/links/5f69e752a6fdcc00863444e3/Climate-impact-on-the-population-dynamics-of-Cruciferae-Bugs-Heteroptera-Pentatomidae-Eurydema.pdf
25. Kryzhanovskiy OL. Composition and distribution of insect faunas of the world. 4. Holarctic Kingdom. *Entomol Rev.* 2022;102:1345-1442. <https://doi.org/10.1134/S0013873822090056>
26. Daminova D, Ganieva Z, Mirzaeva G. Capsid bug (Heteroptera, Miridae) of Uzbekistan. *Norwegian J Dev Int Sci.* 2020;40-1:3-7. <file:///C:/Users/ATU%20Biotech/Downloads/capsid-bug-heteroptera-miridae-of-uzbekistan.pdf>
27. Konstantinov FV, Hosseini R. Review of the genus *Salicarus* (Hemiptera, Heteroptera, Miridae). *ZooKeys.* 2024;1211:57. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1211.129660>
28. Feday I, Markina T. Ecological and faunistic review of the true bugs of infraorder Cimicomorpha (Heteroptera) of urban cenoses of Kharkiv City (Ukraine). *Zoodyversity, Zoology, Animal Diversity.* 2020;54(2):133-46. <http://dspace.hnpu.edu.ua/handle/123456789/5949>

29. Fedyay IA, Markina TY, Putchkov AV. Ecological and faunistic survey of the true bugs of the infraorder Pentatomomorpha (Hemiptera) in the urban cenoses of Kharkiv City (Ukraine). Biosyst Divers. 2018;26(4):263-8. <https://doi.org/10.15421/011840>

30. Kenzhegaliev AM, Esenbekova PA, Myrkasymova AC, Zhaksybaev MB. Arboreal Heteroptera (Hemiptera) of mountain ecosystems of south-eastern Kazakhstan. Exp Biol. 2023;94(1):134-42. <https://doi.org/10.26577/eb.2023.v94.i1.012>

Сведения об авторах:

Марденова Гауһар Ерболқызы - автор-корреспондент, PhD докторант кафедры биологии Казахского национального педагогического университета имени Абая, младший научный сотрудник лаборатории энтомологии Института Зоологии, пр. Аль-Фараби, 93, Алматы, 050060, Казахстан.

Есенбекова Перизат Абдыкаировна - кандидат биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории энтомологии Института Зоологии, пр. Аль-Фараби, 93, Алматы, 050060, Казахстан.

Жаксыбаев Мурат Бодинович - кандидат биологических наук, ассоциированный профессор кафедры биологии Казахского национального педагогического университета имени Абая, ул. Казыбек би, 30, Алматы 050010, Казахстан.

Анарбекова Гүлшат Джумабаевна - кандидат биологических наук, ассоциированный профессор кафедры биологии Казахского национального женского педагогического университета, ул. Гоголя, 114, корпус 6, Алматы, 050000, Казахстан.

Авторлар туралы мәлімет:

Марденова Гауһар Ерболқызы – хат-хабар авторы, Абай атындағы қазақ ұлттық педагогикалық университеті Биология кафедрасының PhD докторанты, Зоология институты Энтомология зертханасының кіші ғылыми қызметкері, Әл-Фараби даңғ., 93, Алматы, 050060, Қазақстан.

Есенбекова Перизат Абдыкаировна – биология ғылымдарының кандидаты, профессор, Зоология институты Энтомология зертханасының бас ғылыми қызметкері, Әл-Фараби даңғ., 93, Алматы, 050060, Қазақстан.

Жаксыбаев Мурат Бодинович – биология ғылымдарының кандидаты, Абай атындағы қазақ ұлттық педагогикалық университеті Биология кафедрасының қауымдастырылған профессоры, Қазыбек би к-сі, 30, Алматы, 050010, Қазақстан.

Анарбекова Гүлшат Джумабаевна – биология ғылымдарының кандидаты, Қазақ ұлттық қыздар педагогикалық университеті Биология кафедрасының қауымдастырылған профессоры, Гоголь к-сі, 114, 6 корпус, Алматы 050000,, Қазақстан.

Authors' information:

Mardenova Gauhar Erbolkizi – corresponding author, PhD student of the Department of Biology, Abai Kazakh National Pedagogical University, junior researcher of the Entomology laboratory, Institute of Zoology, Al-Farabi Ave., 93, Almaty, 050060, Kazakhstan.

Esenbekova Perizat Abdykairovna – Candidate of Biological Sciences, Professor, senior researcher of the Entomology laboratory, Institute of Zoology, Al-Farabi Ave., 93, Almaty, 050060, Kazakhstan.

Zhaksybayev Murat Bodinovich – Candidate of Biological Sciences, Associate professor, Department of Biology, Abai Kazakh National Pedagogical University, Kazybek Bi St., 30, Almaty, 050010, Kazakhstan.

Anarbekova Gulshat Dzhumabayevna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biology, Kazakh National Women's Pedagogical University, Gogol St., 114, Building 6, Almaty, 050000, Kazakhstan.

Редакторы: Р.І. Берсімбаі

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

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің Хабаршысы.
Биологиялық ғылымдар сериясы.
–2(155)/2026 – Астана: ЕҰУ. – 211 б.

Шартты б.т. 12,1. Таралымы – сұраныс бойынша
Ашық қолданыстағы электронды нұсқа: <http://bulbio.enu.kz>

Мазмұнына типография жауап бермейді

Редакция мекен-жайы: 010008, Қазақстан Республикасы, Астана қ., Сәтбаев көшесі, 2.
Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университетінің типографиясында басылды