

ISSN 2224-5308

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



**СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ**



**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

3 (315)

МАМЫР – МАУСЫМ 2016 ж.

МАЙ – ИЮНЬ 2016 г.

MAY – JUNE 2016

1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН

ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА

PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ

ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД

PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі

Ж. А. Арзықұлов

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Айтхожина Н.А.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Байгулин И.О.** (бас редактордың орынбасары); биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Берсімбаев Р.И.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Бишімбаева Н.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Күзденбаева Р.С.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Рахышев А.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ақшолақов С.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Алшынбаев М.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Березин В.Э.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ботабекова Т.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Жамбакин К.Ж.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Қайдарова Д.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Локшин В.Н.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Огарь Н.П.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Рахыпбеков Т.К.**

Р е д а к ц и я к ең е с і:

Абжанов Архат (Бостон, АҚШ); **Абелев С.К.** (Мәскеу, Ресей); **Лось Д.А.** (Мәскеу, Ресей); **Бруно Луненфелд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); философия докторы, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Ұлыбритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Ұлыбритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, АҚШ); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, ҚХР)

Главный редактор

академик НАН РК

Ж. А. Арзыкулов

Редакционная коллегия:

доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.А. Айтхожина**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **И.О. Байтулин** (заместитель главного редактора); доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Р.И. Берсимбаев**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.К. Бишимбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **Р.С. Кузденбаева**, доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **А.Р. Рахисhev**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **С.К. Акшулаков**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **М.К. Алчинбаев**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Э. Березин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Ботабекова**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **К.Ж. Жамбакин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Д.Р. Кайдарова**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Н. Локшин**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Н.П. Огарь**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Рахыпбеков**

Редакционный совет:

Абжанов Архат (Бостон, США); **С.К. Абелев** (Москва, Россия); **Д.А. Лось** (Москва, Россия); **Бруно Луненфельд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); доктор философии, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Великобритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Великобритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, США); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, КНР)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская». ISSN 2224-5308

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2016

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

Zh.A. Arzykulov,
academician of NAS RK

Editorial board:

N.A. Aitkhozhina, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **I.O. Baitulin**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK (deputy editor); **R.I. Bersimbayev**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **N.K. Bishimbayeva**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **R.S. Kuzdenbayeva**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **A.R. Rakhishev**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **S.K. Akshulakov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **M.K. Alchinbayev**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.E. Berezin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Botabekova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **K.Zh. Zhambakin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **D.R. Kaidarova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.N. Lokshin**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **N.P. Ogar**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Rakhypbekov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK

Editorial staff:

Abzhanov Arkhat (Boston, USA); **S.K. Abelev** (Moscow, Russia); **D.A. Los** (Moscow, Russia); **Bruno Lunenfeld** (Israel); **Harun Parlar**, dr., prof. (Munich, Germany); **Stefano Perni**, dr. phylos., prof. (Cardiff, UK); **Saparbayev Murat** (Paris, France); **Saul Purton** (London, UK); **Sarbassov Dos** (Houston, USA); **Gao Endzhun**, dr., prof. (Shenyang, China)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2224-5308

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,
<http://nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2016

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 5 – 15

**CONSTRUCTION OF YEAST CHROMOSOME *HO* LOCUS
ORIENTED INTEGRATIVE EXPRESSION VECTOR****S. M. Taipakova, I. T. Smekenov, A. K. Kuanbay, A. C. Buribaeva, A. K. Bissenbaev***

Institute of Biology and Biotechnology Problems,
al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: Sabira.Taipakova@kaznu.kz; Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz

Kew words: *HO* locus, genomic integration, cellobiohydrolase, secretion, *Lentinula edodes*; *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract. By means of gene engineering methods the *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6His-KanMX4-HO* integral cassette, including cellobiohydrolase *cel7A* gene of *L.edodes* with yeast α -factor signal peptide, *Myc*- and *His*-tags was assembled. New stable yeast strains carrying *cel7A* gene in genome were developed. Chromosomal integration of *cel7A* gene into *HO* locus of yeast genome was confirmed by PCR. The strain shows continuous expression of *cel7A* and secretion of the protein product into surrounding medium. Presence of *Myc*-tag in the protein allows to monitor the gene expression by western blot with *Myc*-specific antibodies. Moreover, the *His* sequence on C-end of protein can be used for purification by affinity chromatography.

УДК 577.216.3, 577.218

**КОНСТРУИРОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОГО
ЭКСПРЕССИОННОГО ВЕКТОРА,
НАПРАВЛЕННОГО НА *HO* ЛОКУС ХРОМОСОМЫ ДРОЖЖЕЙ****С. М. Тайпакова, И. Т. Смекенов, А. К. Куанбай, А. С. Бурибаева, А. К. Бисенбаев***

ДГП «Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии»
КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: *HO* locus; геномная интеграция; секреция, целлюбиогидролаза; *Lentinula edodes*; *Saccharomyces cerevisiae*.

Аннотация. С помощью генно-инженерных методов сконструирован *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6His-KanMX4-HO* интегральная конструкция, включающий ген целлюбиогидролазы *cel7A* гриба *L. edodes* с сигнальным пептидом α -фактора дрожжей, *Myc*-эпитопом и гистидиновым хвостом. Созданы новые стабильные штаммы дрожжей с геном целлюбиогидролазы *cel7A* гриба *L. edodes* в хромосоме. Хромосомная интеграция гена целлюбиогидролазы *cel7A* гриба *L. edodes* в *HO* locus генома дрожжей была подтверждена методом ПЦР. Данный штамм обеспечивает непрерывную экспрессию гена целлюбиогидролазы *cel7A* и секрецию продукта этого гена в окружающую среду. Наличие в составе гена *Myc*-эпитопа позволяет следить за экспрессией гена с помощью иммуноблоттинга с специфическими антителами к *Myc*-эпитопу. Кроме этого, присутствие на С-конце продукта гена последовательности *6xHis*-хвоста позволяет аффинной очистке белкового продукта на основе никель-основанной хроматографии.

В последние годы усилия в области генной инженерии, связанные с созданием дрожжей, в частности, *S.cerevisiae* способных сбраживать целлюлозу, сосредоточились на клонировании генов, кодирующих целлюлаз. Некоторые авторы с использованием эписомальной плазмиды YEp сконструировали рекомбинантные штаммы *S. cerevisiae* для ферментации целлюлозы [1–5].

Известно, что трансформированные YEr многокопийными автономными векторными ДНК клетки дрожжей содержат до 40 копий плазмид на клетку. Непрерывная экспрессия большого количества чужеродных генов в *S.cerevisiae*, может приводить к истощению энергетических ресурсов и нарушению метаболизма клетки. Кроме этого, данный тип плазмид обычно трудно стабильно поддерживать в клетках и, как правило, с относительно высокой частотой утрачиваются клетками, особенно при отсутствии селективного давления по маркерам плазмид. С практической точки зрения для стабильности белка, а также для предотвращения потери рекомбинантного гена в отсутствие селективного фактора более подходящим является использование интегральных векторов – обеспечивающих внедрение генов в хромосому дрожжей [6]. В связи с этим δ -интеграционные векторы были использованы для стабильного повышения числа копий гена-мишени в *S.cerevisiae*. Длинные концевые повторы Tu-элемента, известные как δ -последовательность, являются хорошими мишенями для интеграции генов путем гомологичной рекомбинации, так как по всему геному дрожжей содержится приблизительно 425 копий данной последовательности [7]. Векторы для δ -интеграции были использованы для экспрессии человеческого фактора роста [8], антикоагулянта-гирудин [9], глюкоамилазы [10]. Относительно недавно были сконструированы рекомбинантные штаммы *S.cerevisiae*, содержащие множество копий генов эндоглюконазы, целлюбиогидролазы и β -глюкозидазы, интегрированные в хромосому посредством интегрального вектора на основе δ -последовательности [7,11]. Данный подход значительно увеличил целлюлолитическую активность рекомбинантного штамма. Однако все вышеперечисленные интеграционные векторы содержат ауксотрофные маркерные гены, такие как *LEU2-D*, *HIS3*, *TRP1* и *URA3*. Описанные подходы вынуждают работать с узким кругом хорошо охарактеризованных мутантных штаммов дрожжей. Такие штаммы дрожжей не пригодны для промышленного использования, поскольку в случае промышленных дрожжей не существует внутренних генетических маркеров, таких как потребность в аминокислотах или нуклеиновых кислотах и т.д.

Voth с соавторами [12] сообщили о создании нескольких интегральных дрожжевых векторов, способных включаться в хромосому дрожжей путем генного замещения с использованием участка гомологичной последовательности *HO* гена. Однако интегральные векторы, описанные в данной работе, не содержат промоторы и могут быть использованы только для интеграции генов с собственными промоторами.

HO ген кодирует эндонуклеазу, ответственного за превращение дрожжевой клетки в клетку противоположного типа спаривания и инициирует диплоидизацию гаплоидных клеток [13]. Показано что, делеция *HO* локуса не влияет на рост дрожжей и практически все лабораторные и промышленные штаммы *S. cerevisiae* имеют мутации в данном локусе [14, 15].

В настоящей работе конструирован интегральный плазмидный вектор с промотором глицероальдегид-дифосфат дегидрогеназы, сигнальным пептидом α -фактора дрожжей и гистидиновым тэгом. Показано, что конструированный плазмидный вектор обеспечивает непрерывную экспрессию гена целлюбиогидролазы *cel7A* и секрецию продукта этого гена в окружающую среду. Наличие в составе гена *Мус*-эпитопа позволяет следить за экспрессией гена с помощью иммуноблотинга с специфическими антителами к *Мус*-эпитопу.

Материалы и методы исследования

Штаммы и плазмиды. В ходе работы использовали клеточные линии: DH5 α (F⁻ endA1 glnV44 thi-1 recA1 relA1 gyrA96 deoR nupG Φ 80dlacZ Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*)U169, hsdR17(r_K⁻ m_K⁺), λ -) для наработки плазмидной ДНК и дрожжевой экспрессионный штамм FF18733 (*MATa his7-2 leu2-3,112 lys1-1 trp1-289 ura3-52*) фирмы «Stratagene». Культивирование бактерий *E. coli* проводили при 37°C в полноценной среде LB при необходимости дополненной ампициллином в конечной концентрации 100 мкг/мл. Дрожжи выращивали при 30°C в среде YPD (1% дрожжевой экстракт, 2% пептон, 2% глюкоза). Скрининг трансформированных дрожжевых клеток проводили в среде YPD с генетицином (G418) в конечной концентрации 100 мкг/мл.

В данной работе были использованы вектора и плазмиды представленные в таблице 1. Интегральный вектор *pHO-poly-KanMX4-HO* любезно предоставлен профессором Дэвидом Стилманом, университет Юты, США, конститутивный вектор YEPGA ρ – профессором Х. Кумагай, Киотский университет, Япония.

Таблица 1 – Плазмиды использованные в данной работе

| Плазмиды | Особенности | Источник |
|---|--|---------------|
| pMETalphaB | Сигнальный пептид (α -фактор) | Invitrogen |
| pBAD/gIII A | Мус-эпитоп, 6xHis*tag | Invitrogen |
| YEGAp | pGAPDH, tGAPDH | [16] |
| M4297 | Интегральный вектор, KanMX4 | [12] |
| pBAD/gIII A/ α -cel7A | α -cel7A- мус-6xHis*tag | В этой работе |
| YEPGAp/ α -cel7A | pGAPDH- α -cel7A-мус-6xHis*tag-tGAPDH | В этой работе |
| pHO-GAPDH- α -cel7A-мус-6His-KanMX4-HO | Экспрессионный вектор для интеграции в HO локус генома дрожжей | В этой работе |

Для приготовления буферных растворов использовали реактивы марок х.ч., ч.д.а., и о.с.ч., производимых фирмами «Sigma», «Amresco», «Applichem» и «Реахим». А так же в ходе работы использовали ферменты модификации ДНК и белков производства фирм «Sigma-Aldrich» (Германия), «New England Biolabs» (Франция), «Fermentas» (Польша), «Promega» (США), «Roche» (США).

Выделение геномной ДНК из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Инокулят дрожжевых клеток в 5 мл богатой среды YEPD с антибиотиком G418 инкубировали в течение ночи при 30°C. Клетки осаждали центрифугированием при 3000 об/мин в течение 5 мин и осадок клеток отмывали предворительно охлажденной стерильной dH₂O. Далее клетки ресуспендировали в 200 мкл лизирующего буфера (2% Triton X, 1% SDS, 100 mM NaCl, 10 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA) добавили равный объем хлороформ-изоамилового спирта (24:1) и 300 мг стеклянных бусинок, промытых в кислоте и гомогенизировали вортексированием при максимальной скорости в течение 3-4 мин с перерывами каждые 1 мин. Далее к лизату добавляли 200 мкл TE, перемешали и центрифугировали со скоростью 12 000 об/мин при 4°C, 10 минут. Отбирали водную фазу и проводили экстракцию 2,5 объемом охлажденного изопропанола (-20 °C). Плавно перемешивали и инкубировали в морозильной камере в течение 30 минут. Препарат центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 15 минут. Затем супернатант сливали и осадок, содержащий НК, подсушивали под вакуумом и растворяли в 400 мкл TE с RNase для деградации РНК. Далее содержимое пробирки инкубировали 30 мин при 37 °C. После завершения времени инкубации добавили 10 мкл 4М ацетата аммония, 2,5 объема этанола и помещали на 30 мин в морозильник на -20°C. Осадок собирали центрифугированием и растворяли в 50 мкл dH₂O.

Полимеразная цепная реакция. Для аналитических и препаративных процедур использовали набор PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific # K0172). ПЦР-амплификацию проводили в следующем температурном режиме: денатурация - 94 °C – 1 мин, 30 циклов амплификации при 94 °C – 1 мин, 61°C – 30 сек, 72°C – 30 сек и заключительная элонгация при 72°C – 2 мин, 4°C 10 мин. Для определения эффективности интеграции методом ПЦР использовали специфические праймера (таблица 2).

Таблица 2 – Последовательность праймеров использованных для анализа эффективности интеграции рекомбинантной конструкции

| Праймер | Последовательность |
|---------|---|
| Pr-1 | 5'-GCGTTGTTACCACAACCTCTATGAG-3' |
| Pr-2 | 5'-TCTGAAAACACGACTATTCTGATGG-3' |
| Pr-3 | 5'-GGAGGCCCCAGAATACCCTCCTTGA-3' |
| Pr-6 | 5'-GCGGCCGCCCCGGGATGAGATTTCCTTC-3' |
| Pr-7 | 5'-GCGGCCGCTTAATTAAGGATCCTCAATGATGATGATG-3' |
| Pr-8 | 5'-CACGCTGCAGCCCAGCAAGCCGGAACA-3' |
| Pr-9 | 5'-CACGTCTAGACGCAAACATTGACTGTAGT-3' |

Экстракция белков и ДСН-ПААГ электрофорез. Трансформированные клетки культивировали в течение ночи в 20 мл среды YPD, содержащей G418. Затем ночную культуру инокулировали в 1000 мл свежей среды с генетицином (100 мкг/мл) и культивировали при 30°C в течение 3 суток. Клетки собирали центрифугированием в течение 7 мин при 3000 x g. Культуральную жидкость, содержащую секретируемые белки, центрифугировали повторно. Клетки ресуспендировали в 50мМ натрий-фосфатном буфере и лизировали соникированием в течение 20 секунд при мощности 14мА, до получения прозрачного лизата. Клеточный лизат центрифугировали при 14 000 x g в течение 30 мин для удаления клеточных остатков. Супернатант и культуральную жидкость использовали в качестве источника рекомбинантного белка. Содержание белка в образцах определяли по методу Бредфорда [17], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин (БСА).

Разделение белков по молекулярной массе проводили в 12% в денатурирующих условиях с 0,1 % ДСН (додecilсульфат натрия) по методу Laemmli [18]. Гель окрашивали в растворе Кумасси синего R-250.

Результаты и их обсуждение

Для создания интегрального вектора с промотором глицероальдегид-дифосфат дегидрогеназы, сигнальным пептидом α -фактора дрожжей и гистидиновым тэгом нами были использованы несколько плазмидных векторов в качестве источников промотора, сигнального пептида, *Muc*-эпитопа и *6xHis*-тэга (таблица 1).

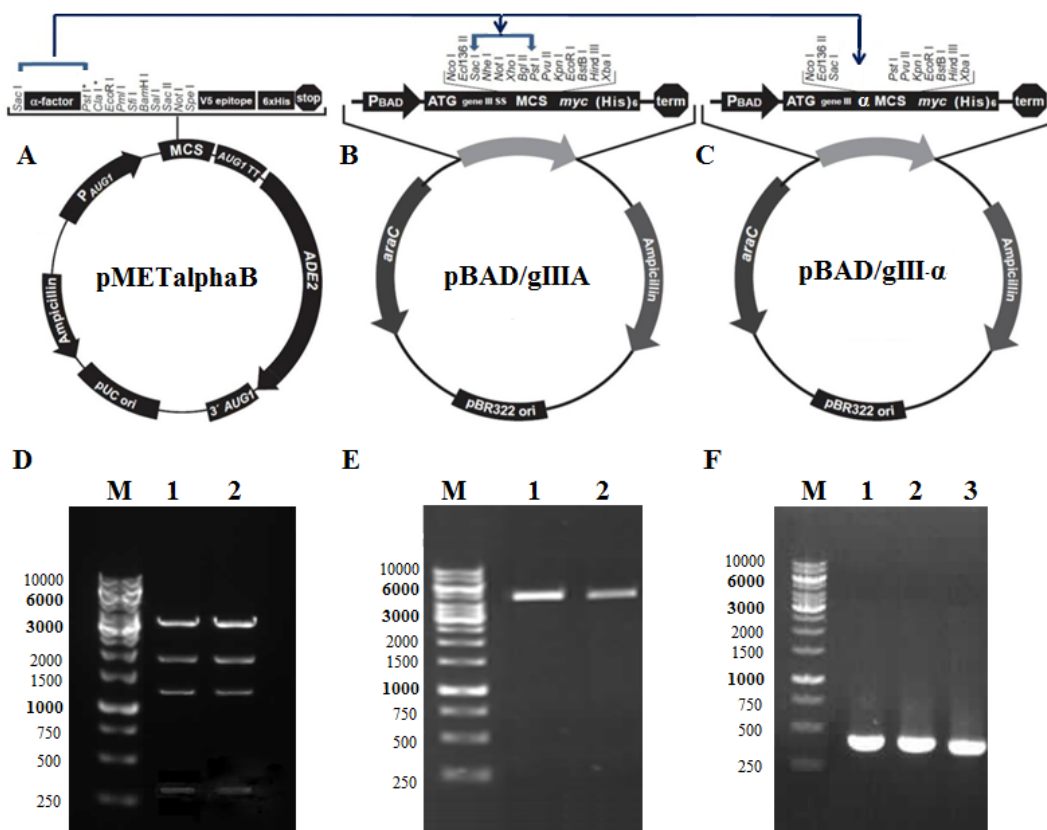
Известно, что для создания векторов секреции активно используют лидерную последовательность α -фактора. Этот феромон состоит из 13 аминокислот и первоначально синтезируется со структурного гена *MFal* как часть белка-предшественника размером 165 аминокислот. Данный белок на N-конце содержит сигнальный пептид из 19 аминокислот, который расщепляется при секреции препробелка в эндоплазматическом ретикулуме. За сигнальным пептидом следует пропоследовательность длиной 64 аминокислот, имеющая три участка гликозилирования. Точная функция пропоследовательности не выяснена. Предполагают, что она может усиливать секрецию белка в окружающую среду [19, 20]. Поэтому для эффективной секреции клонируемого гена (*cel7A*) мы использовали последовательность нуклеотидов, кодирующий сигнальный пептид из 19 аминокислот и пропоследовательность длиной 64 аминокислот. В общей сложности нами использованный последовательность кодирующий сигнальный пептид α -фактора дрожжей состояла из 267 п.н. Последовательность, состоящая из шести кодонов аминокислоты гистидина, нами использована для последующей очистки продукта клонируемого гена на основе никель – основанной аффинной хроматографией.

Известно, молекулы ДНК, кодирующие эпитопы, которые распознаются известными антителами, могут быть «привязаны» к известным генам. В результате белковый продукт такого гена будет содержать соответствующий эпитоп, что позволяет следить за этим белком в условиях эксперимента с помощью коммерчески доступных антител к данному эпитопу. Так как продукту нами клонируемого гена нет доступных антител, мы решили использовать *Muc*-эпитоп. *Muc*-эпитоп состоит из 11 аминокислот и имеются коммерчески доступные специфические антитела.

Создание интегрального экспрессионного вектора с сигнальным пептидом α -фактора дрожжей, *Muc*-эпитопом и гистидиновым хвостом (*6xHis*) проводили в несколько этапов:

Конструировали вектор pBAD, содержащий сигнальный пептид для секреции α -фактора дрожжей (рисунок 1С). В качестве источника сигнального пептида α -фактора дрожжей использовали дрожжевой вектор pMETalphaВ (таблица 1, рисунок 1А). Для этого наработанную плазмидный вектор pMETalphaВ обрабатывали ферментами *SacI* и *PstI* (рисунок 1 А и D), полученный фрагмент длиной 267 нуклеотидов лигировали в вектор pBAD/gIIIА, обработанной по тем же сайтам рестрикции (рисунок 1В и E). Продукты лигирования трансформировали в клетки *E.coli* штамма DH5 для наработки плазмиды. Скрининг трансформантов проводили в агаризованной среде LB с ампициллином.

Для анализа плазмид, выделенных с трансформированных клеток, на наличие вставок провели рестрикционный и ПЦР анализ. В результате были отобраны 5 клонов, содержащие рекомбинантную

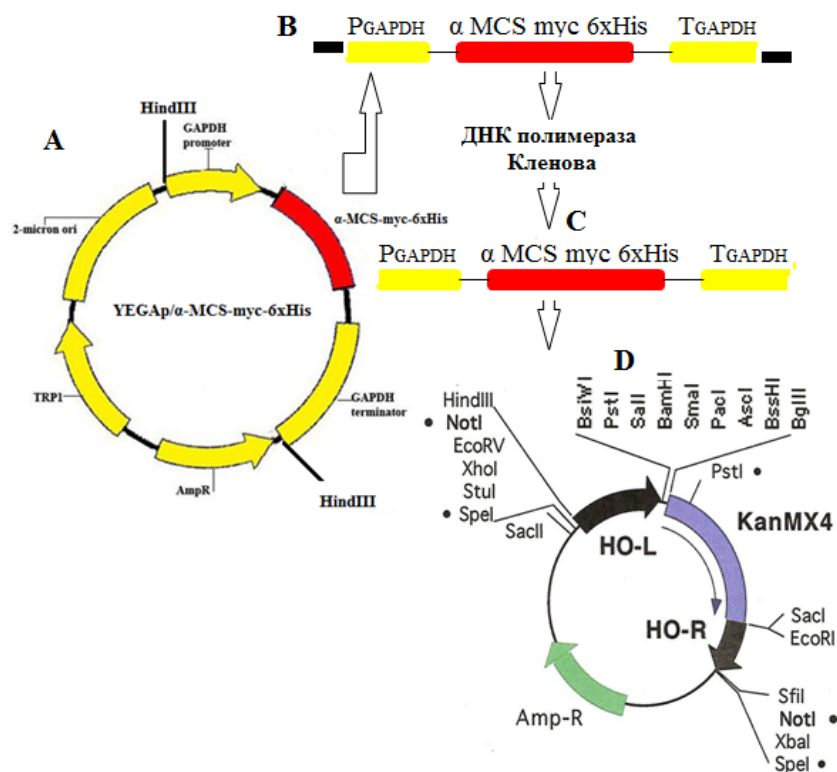


А – карта вектора pMETalphaB. В – карта вектора pBAD/gIII A. С – карта вектора pBAD/gIII-α-MCS-myc-6xHis. D – рестрикция pMETalpha B по *SacI/PstI*. М – ДНК маркер; 1, 2 – продукты рестрикции плазмиды. Е – рестрикция pBADgIII A по *SacI/PstI*. М – ДНК маркер; 1, 2 – продукты рестрикции плазмиды. F – продукт амплификации α-MCS-myc-6xHis кассеты на матрице pBADgIII/α-MCS-myc-6xHis; М – ДНК маркер; 1–3 – продукты PCR.

Рисунок 1 – Конструирование рекомбинантной плазмиды pBAD/gIII-α-myc-6xHis

плазмиду pBAD/gIII-α-MCS-myc-6xHis (рисунок 1C). Далее полученную рекомбинантную плазмиду pBAD/gIII-α-MCS-myc-6xHis амплифицировали с помощью следующих праймеров: смысловой праймер 5'-Dir- GCGGCCGCCCCGGGATGAGATTTCCCTTC и антисмысловый праймер 5'-Rev- GCGGCCGCTTAAGGATCCTCAATGATGATGATG. В результате получили фрагмент длиной 404 нуклеотидов (рисунок 1F), состоящий из нуклеотидных последовательностей сигнального пептида, *Мyc*-эпитопа и *6xHis* (α-MCS-myc-6xHis). Продукты ПЦР обработали с помощью *SmaI* и *NotI* для клонирования в вектор YEGAp/*engI*. В результате фрагмент содержал в одном - тупой (*SmaI*), а в другом липкий конец характерный для *NotI*. Перед клонированием α-MCS-myc-6xHis, YEGAp/*engI* обработали ферментом *EcoRI*. Затем 3' – концы наращивали с помощью фрагмента Кленова. После инактивации фрагмента Кленова проводили обработку ферментом *NotI*, что обеспечило соответствие концов плазмидного вектора к концам α-MCS-myc-6xHis фрагмента. Затем клонируемый фрагмент лигировали с YEGAp и получили YEGAp/α-MCS-myc-6xHis констракцию.

В следующем этапе мы приступили к созданию интегрального экспрессионного вектора на основе M4297 платформы. Схема создания интегрального вектора представлена на рисунке 2. Для этого по отдельности платформу M4297 (рисунок 2D, с геном устойчивости к канамицину) и YEGAp/α-MCS-myc-6xHis (рисунок 2A) резали по сайтам рестрикции фермента *HindIII* (рисунок 2B). Затем обработали фрагментом Кленова для получения тупых концов (рисунок 2C). В результате полученный фрагмент длиной около 2700 п.н. лигировали с M4297. В результате была получена плазмида pHO-GAPDH-α-myc-6xHis-KanMX4-HO экспрессионный вектор с промотором глицероальдегид-дифосфат дегидрогеназы, сигнальным пептидом α-фактора дрожжей и гистиридиновым тэгом.



А – YEGAp/α-MCS-myc-6xHis вектор, В – участок YEGAp/α-MCS-myc-6xHis вектора содержащий α-MCS-myc-6xHis с липкими концами, С – α-MCS-myc-6xHis с тупыми концами, D – M4297 платформа.

Рисунок 2 – pHO-GAPDH-α-myc-6xHis-KanMX4-HO

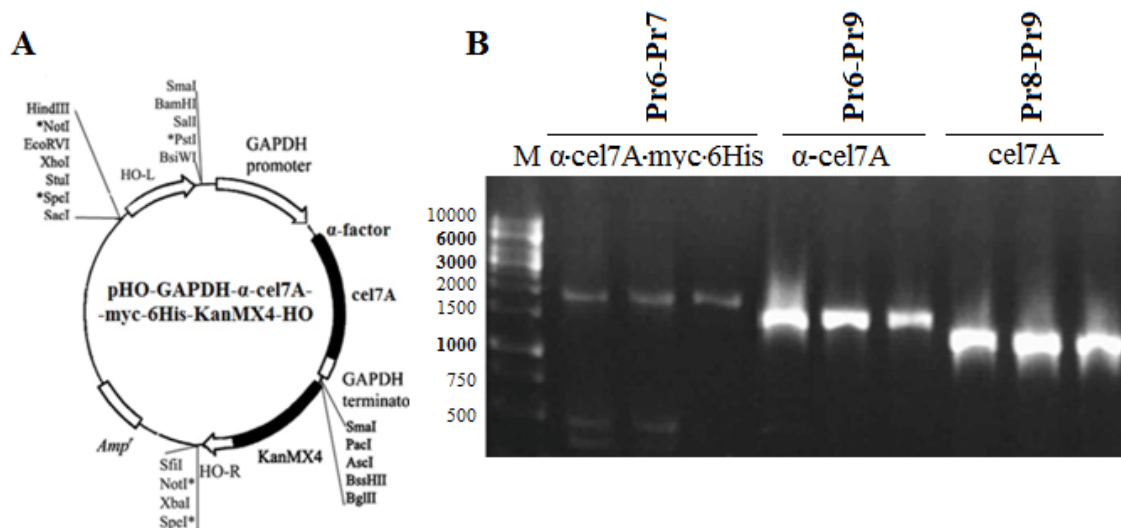
Ранее нами был выделен кДНК ген целлюбиогидролазы *cel7A* гриба *L. edodes* [21]. *CEL7A* – белок длиной 516 аминокислот с молекулярной массой 53,5кДа. По данным компьютерного анализа этот фермент должен секретироваться из клеток гриба, поскольку имеет на N-конце сигнальный пептид, который должен отщепляться между аминокислотами Gly18 и Gln19. Однако наши предыдущие эксперименты показали, что сигнальный пептид *CEL7A* не распознается секреторной системой *S. cerevisiae* [22]. В связи с этим мы решили для эффективной секреции использовать сигнальный пептид дрожжевого полового феромона – α-фактора дрожжей, которая способствует эффективной секреции рекомбинантного белка в окружающую среду [20].

В связи с этим для клонирования гена *cel7A* в созданную нами pHO-GAPDH-α-myc-6xHis-KanMX4-HO конструкцию необходимо с гена этого фермента удалить нативный сигнальный пептид для секреции (20 аминокислот) и стартовый кодон. Поэтому мы учли эти особенности при разработке праймеров для ПЦР амплификации гена *cel7A* *L. edodes*. Амплификацию целлюбиогидролазы *cel7A* на матрице полученной нами ранее плазмиды pET11d/*cel7A* проводили с использованием смыслового праймера 5'-*cel7A*-PstI-cacgCTGCAGCCCAGCAAGCCGGAACA с сайтом рестрикции *PstI* и антисмыслового праймера 5'-*cel7A*-XbaI-cacgTCTAGACGCAAACATTGACTGTAGT с сайтом рестрикции *XbaI*.

Далее ПЦР продукт размером около 1500 п.н. был обработан ферментами рестрикции *PstI* и *XbaI*. Фрагменты ДНК полученные в результате рестрикции, были разделены электрофорезом в 1% агарозном геле. Фрагмент размером в 1494 п.н. соответствующий длине кДНК гена целлюбиогидролазы *cel7A* без нативного сигнального пептида, был выделен из геля и использована для клонирования в плазмиду pHO-GAPDH-α-myc-6xHis-KanMX4-HO, обработанную по тем же сайтам рестрикции. Продукты лигирования трансформировали в клетки *E. coli* штамма DH5 для наработки плазмиды.

Скрининг трансформантов проводили в агаризованной среде LB с ампициллином. В результате были отобраны 7 клонов, содержащие рекомбинантную плазмиду pHO-GAPDH-α-*cel7A*-myc-6xHis-

KanMX4-*HO*. Схема конструированной нами экспрессионного интегрального вектора с геном *cel7A*, включающий сигнальный пептид феромона – α -фактора дрожжей, *Мус*-эпитоп и *6xHis* хвост представлена на рисунке 3А. Далее для анализа плазмид выделенных с трансформированных клеток на наличие вставок провели ПЦР анализ (рисунок 3В). При этом для определения правильной ориентации гена *cel7A* по отношению к промотору, сигнальному пептиду и к *мус-6xHis* последовательностям нами разработан набор праймеров (таблица 2, Pr6 - Pr9) для ПЦР анализа.



А – карта *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO*. В – ПЦР продукты, полученные на матрице рекомбинантной плазмиды с применением праймеров Pr1-Pr4.

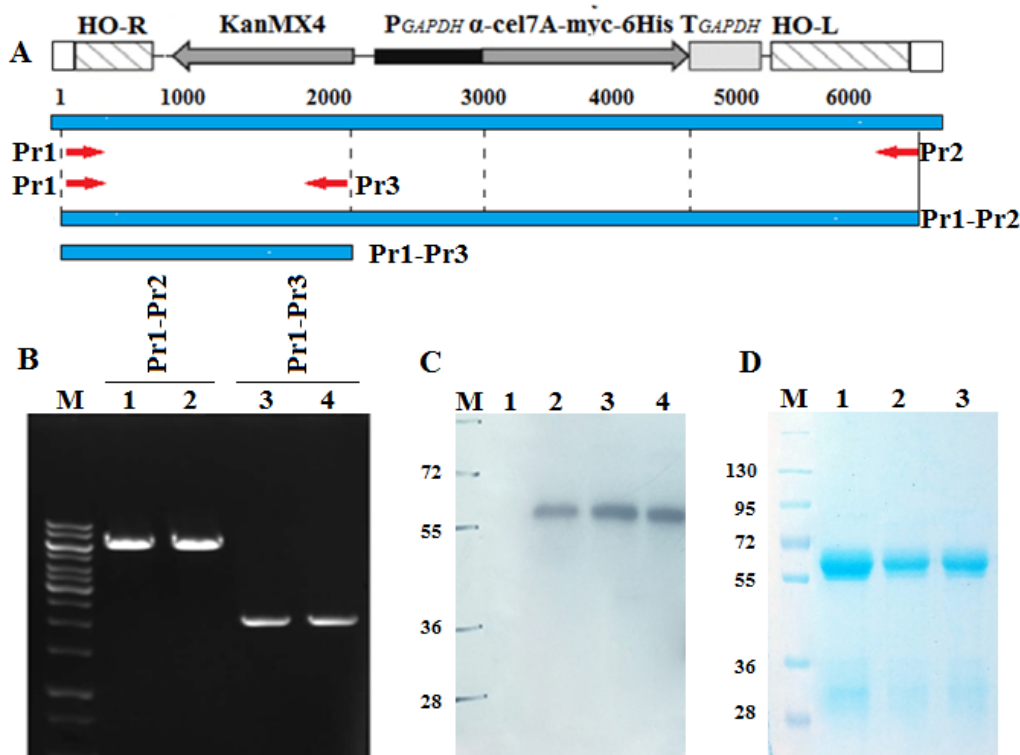
Рисунок 3 – Анализ рекомбинантной *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO* на наличие вставки

В результате ПЦР с праймерами Pr6 (комплементарна к 3'-концу последовательности сигнального пептида) и Pr7 (комплементарна к 3'-концу кассеты с *6xHis* хвостом), как ожидалось, амплифицирован фрагмент ДНК размером около 1900 п.н (рисунок 3В). При использовании праймеров Pr6 и Pr9 (Pr 9 – ген специфический антисмысловый праймер *cel7A*) обнаружился только один фрагмент длиной 1800 п.н (рисунок 3В). Наличие гена целлюбиогидролазы *cel7A* гриба *L. edodes* в интегрированной кассете проверяли применением ген-специфических праймеров Pr8 – Pr9 (рисунок 3В). Результаты этих экспериментов подтверждают правильную ориентацию гена *cel7A* по отношению к промотору, сигнальному пептиду и к *мус-6xHis* последовательностям.

В последующих экспериментах полученную рекомбинантную интегральную плазмиду *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO* линейаризировали рестрикцией ферментами *EcoRV* и *XbaI* и использовали для трансформации клеток *S. cerevisiae* штамма FF18733. Скрининг трансформантов проводили в агаризованной YPD в присутствии G418. Хромосомная интеграция кассеты с геном *α -cel7A* в *HO* локус генома дрожжей была подтверждена методом ПЦР с применением праймеров представленных в таблице 1 и с использованием геномной ДНК рекомбинантных штаммов в качестве матрицы (рисунок 4).

В результате ПЦР с праймерами Pr1 и Pr2, гомологичных к участкам хромосомы фланкирующие *HO* локус, как ожидалось, амплифицирован фрагмент ДНК размером около 6400 п.н. (рисунок 4В, 1-2). При использовании праймеров Pr1 и Pr3 (Pr3 гомологична к участку KanMX4 гена) обнаружился только один фрагмент длиной 2000 п.н (рисунок 4В, 3-4). Результаты этих экспериментов подтверждают эффективную интеграцию кассеты *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO* в *HO* локус генома *S.cerevisiae*.

Таким образом, в результате работы был создан вектор интеграции *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO*, способный встраиваться в хромосому штамма *Saccharomyces cerevisiae* за счет гомологичной рекомбинации. На основе штамма FF18733 *Saccharomyces cerevisiae* с помощью вектора *pHO-GAPDH- α -cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO* получен рекомбинантный штамм *S. cerevisiae/pGAPDH- α -cel7A*.



А – линейная форма *pHO-PGAPDH-α-cel7A-KanMX4-HO* кассеты с картой праймеров. В – продукты ПЦР, полученные на матрице геномной ДНК с применением Pr1-Pr3 праймеров.

Рисунок 4 – Эффективность интеграции *pHO-PGAPDH-α-cel7A-myc-6xHis-KanMX4-HO* кассеты в хромосомную ДНК *Saccharomyces cerevisiae*

Как отмечалось выше, данная конструкция должна обеспечивать не только экспрессию рекомбинантного белка, но и секрецию в среду культивирования, а также следить за экспрессией гена с помощью иммуноблоттинга со специфическими антителами к *Мyc*-эпитопу. В связи с этим в последующих экспериментах для доказательства экспрессии рекомбинантного *CEL7A L. edodes* использовали иммуноблоттинг с коммерческими *c-Myc* антителами. Для этого образцы белков клеточного экстракта рекомбинантных клеток *S. cerevisiae/pGAPDH-α-cel7A* фракционировали с помощью ДСН-ПААГЭ и перенесли на PVDF мембрану и инкубировали с *c-Myc* антителами. Иммуноблоттинг выявил мажорную белковую полосу с молекулярной массой незначительно большей, чем рассчитанная молекулярная масса *CEL7A* (рисунок 4С, 2-4). Тогда как белки, полученные из не трансформированных клеток, не содержали белковой полосы с искомой массой (рисунок 4С, 1).

Для анализа секреции и очистки секретируемого рекомбинантного белка культуральную жидкость, отобранную через 72 часа культивирования рекомбинантных клеток *S. Cerevisiae/pGAPDH-α-cel7A*, дополнительно центрифугировали в течение 7 мин при 3000xg для осаждения остаточных клеток, фильтровали через фильтр с диаметром пор 45 мкм. Далее состав культуральной жидкости уравнивали составом буфера А (20 мМ Tris-HCl, pH 7.6, 500 мМ NaCl, 0.1% NP40 20мМ Имидазол) и загрузили на хелатирующую колонку HiTrap Chelating HP column (Amersham Biosciences, GE Health) заряженную ионами Ni²⁺. Связавшийся белок элюировали буфером, содержащим 500мМ имидазола (pH 8,0). Следует отметить, что все процедуры хроматографической очистки проводили при температуре 0-4°C. На каждом этапе выделения и очистки отбирали алиquotы для электрофоретического анализа белков. Степень очистки полученного белка определяли с помощью гель-электрофореза по Лэммли с последующим окрашиванием раствором Coomassie G-250 (рисунок 4D). Как видно из представленных данных, рекомбинантный белок был очищен до гомогенного состояния с помощью никель-хелатной хроматографии. Однако молекулярная масса очищенной секретируемой целлюлозогидролазы в ДСН-ПААГ превышала расчетную молекулярную массу (53 кДа) фермента. Эти данные указывают на то, что секреторная форма

CEL7A в трансформированных дрожжевых клетках представлено формой с более высокой молекулярной массой. Увеличение молекулярной массы свойственно гликозилированным белкам, так как они часто представлены в виде набора различных по молекулярной массе гликоформ, отличающихся длиной и составом олигосахаридных цепей [23].

Таким образом, было показано что рекомбинантный штам *S. cerevisiae*/pGAPDH- α -*cel7A*, полученный с помощью конструированного нами интегрального вектора *pHO-GAPDH- α -cel7A-мус-6xHis-KanMX4-HO* обеспечивает непрерывную экспрессию гена целлюбиогидролазы *cel7A* и секрецию продукта этого гена в окружающую среду. Наличие в составе гена *Мус*-эпитопа позволяет следить за экспрессией гена с помощью иммуноблотинга с специфическими антителами к *Мус*-эпитопу. Кроме этого, присутствие на С-конце продукта гена последовательности *6xHis*-хвоста позволяет аффинной очистке белкового продукта на основе никель-основанной хроматографии.

Благодарности. Работа поддержана грантом ГФ4/1324 МОН РК.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Fujita Y., Ito J., Ueda M., Fukuda, H., Kondo A. Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 70. – P. 1207-1212.
- [2] Wen F., Sun J., Zhao H. Yeast surface display of trifunctional minicellulosomes for simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to ethanol // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – Vol. 76. – P. 1251-1260.
- [3] Den Haan R., Rose S.H., Lynd L.R., Van Zyl W.H. Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* // *Metab. Eng.* – 2007. – Vol. 9. – P. 87-94.
- [4] Tsai S.L., Goyal G., Chen W. Surface display of a functional minicellulosome by intracellular complementation using a synthetic yeast consortium and its application to cellulose hydrolysis and ethanol production // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – Vol. 76. – P. 7514-7520.
- [5] Fan L.H., Zhang Z.J., Yu X.Y., Xue Y.X., Tan T.W. Self-surface assembly of cellulosomes with two mini scaffolds on *Saccharomyces cerevisiae* for cellulosic ethanol production // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2012. – Vol. 109. – P. 13260-13265.
- [6] Yamada R., Hasunuma T., Kondo A. Endowing non-cellulolytic microorganisms with cellulolytic activity aiming for consolidated bioprocessing // *Biotechnol. Adv.* – 2013. – Vol. 31. – P. 754-763.
- [7] Yamada R., Tanaka T., Ogino C., Kondo A. Gene copy number and ploidy on products formation in yeast // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 88. – P. 849-857.
- [8] Sakai A., Shimizu Y., Hishinuma F. Integration of heterologous genes into chromosome of *Saccharomyces cerevisiae* using a delta sequence of yeast retrotransposon Ty // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1990. – Vol. 3. – P. 302-306.
- [9] Kim M.D., Rhee S.K., Seo J.H. Enhanced production of anticoagulant hirudin in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* by chromosomal delta-integration // *J. Biotechnol.* – 2001. – Vol. 85(1). – P. 41-48.
- [10] Kim J.H., Kim H.R., Lim M.H., Ko H.M., Chin J.E., Lee H.B., Kim I.C., Bai S. Construction of a direct starch-fermenting industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* producing glucoamylase, α -amylase and debranching enzyme // *Biotechnol. Lett.* – 2010. – Vol. 32. – P. 713-719.
- [11] Yamada R., Taniguchi N., Tanaka T., Ogino C., Fukuda H. Cocktail delta-integration a novel method to construct cellulolytic enzyme expression ratio-optimized yeast strains // *Microb. Cell Fact.* – 2010. – Vol. 9. – P. 32.
- [12] Voth W.P., Richards J.D., Shaw J.M., Stillman D.J. Yeast vectors for integration at the HO locus // *Nucleic Acids Res.* – 2001. – Vol. 29. – P. E59-59.
- [13] Bakhrat A., Jurica M.S., Stoddard B.L. and Raveh D. Homology modeling and mutational analysis of Ho endonuclease of yeast // *Genetics.* – 2004. – Vol. 166. – P. 721-728.
- [14] Baganz F., Hayes A., Marren D., Gardner D.C., et al. Suitability of replacement markers for functional analysis studies in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast.* – 1997. – Vol. 13. – P. 1563-1573.
- [15] Walker M.E., Gardner J.M., Vystavelova A., McBryde C., et al. Application of the reusable, KanMX selectable marker to industrial yeast: construction and evaluation of heterothallic wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*, possessing minimal foreign DNA sequences // *FEMS Yeast Res.* – 2003. – Vol. 4. – P. 339-347.
- [16] Hong J., Tamaki H., Akiba S., Yamamoto K., et al. Cloning of a gene encoding a highly stable endo-1,4- β -glucanase from *Aspergillus niger* and its expression in yeast // *J. Biosci. Bioeng.* – 2001. – Vol. 92. – P. 434-441.
- [17] Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.
- [18] Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
- [19] Michaelis S., and Herskowitz I., et al. The a-factor pheromone of *Saccharomyces cerevisiae* is essential for mating // *Mol. Cell Biol.* – 1988. – Vol. 8, N 3. – P. 1309-1318.
- [20] Strazdis J.R., MacKay V.L. Induction of yeast mating pheromone a-factor by alpha cells // *Nature.* – 1983. – Vol. 305, N 5934. – P. 543-545.

[21] Taipakova S.M., Smailov B.B., Stanbekova G.E., Bissenbaev A.K. Cloning and expression of *Lentinula edodes* cellobiohydrolase gene in *E. coli* and characterization of recombinant enzyme // *Journal of Cell and Molecular biology*. – Turkey, 2011. – Vol. 9, N 1. – P. 53-63.

[22] Бисенбаев А.К. Тайпакова С.М. Клонирование и экспрессия кДНК целлюлогидролазы CEL7A гриба *Lentinula edodes* в про- и эукариотических системах и изучение физико-химических свойств рекомбинантного фермента // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2012. – № 3(291). – С. 39-46.

[23] Kasturi L., Chen H., Shakin-Eshleman S.H. Regulation of N-linked core glycosylation: use of a site-directed mutagenesis approach to identify Asn-Xaa-Ser/Thr sequons that are poor oligosaccharide acceptors // *Biochem. J.* – 1997. – Vol. 323. – P. 415-419.

REFERENCES

[1] Fujita Y., Ito J., Ueda M., Fukuda H., Kondo A. Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2004**, 70, 1207-1212 (in Eng.).

[2] Wen F., Sun J., Zhao H. Yeast surface display of trifunctional minicellulosomes for simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to ethanol. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2010**, 76, 1251-1260 (in Eng.).

[3] Den Haan R., Rose S.H., Lynd L.R., Van Zyl W.H. Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab. Eng.*, **2007**, 9, 87-94 (in Eng.).

[4] Tsai S.L., Goyal G., Chen W. Surface display of a functional minicellulosome by intracellular complementation using a synthetic yeast consortium and its application to cellulose hydrolysis and ethanol production. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2010**, 76, 7514-7520 (in Eng.).

[5] Fan L.H., Zhang Z.J., Yu X.Y., Xue Y.X., Tan T.W. Self-surface assembly of cellulosomes with two mini scaffolds on *Saccharomyces cerevisiae* for cellulosic ethanol production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2012**, 109, 13260-13265 (in Eng.).

[6] Yamada R., Hasunuma T., Kondo A. Endowing non-cellulolytic microorganisms with cellulolytic activity aiming for consolidated bioprocessing. *Biotechnol. Adv.*, **2013**, 31, 754-763 (in Eng.).

[7] Yamada R., Tanaka T., Ogino C., Kondo A. Gene copy number and polyploidy on products formation in yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2010**, 88, 849-857 (in Eng.).

[8] Sakai A., Shimizu Y., Hishinuma F. Integration of heterologous genes into chromosome of *Saccharomyces cerevisiae* using a delta sequence of yeast retrotransposon Ty. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1990**, 3, 302-306 (in Eng.).

[9] Kim M.D., Rhee S.K., Seo J.H. Enhanced production of anticoagulant hirudin in recombinant *Saccharomyces cerevisiae* by chromosomal delta-integration. *J. Biotechnol.*, **2001**, 85(1), 41-48 (in Eng.).

[10] Kim J.H., Kim H.R., Lim M.H., Ko H.M., Chin J.E., Lee H.B., Kim I.C., Bai S. Construction of a direct starch-fermenting industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* producing glucoamylase, α -amylase and debranching enzyme. *Biotechnol. Lett.*, **2010**, 32, 713-719 (in Eng.).

[11] Yamada R., Taniguchi N., Tanaka T., Ogino C., Fukuda H. Cocktail delta-integration: a novel method to construct cellulolytic enzyme expression ratio-optimized yeast strains. *Microb. Cell Fact.*, **2010**, 9, 32 (in Eng.).

[12] Voth W.P., Richards J.D., Shaw J.M., Stillman D.J. Yeast vectors for integration at the *HO* locus. *Nucleic Acids Res.*, **2001**, 29, E59-59 (in Eng.).

[13] Bakhrat A., Jurica M.S., Stoddard B.L. and Raveh D. Homology modeling and mutational analysis of Ho endonuclease of yeast. *Genetics*, **2004**, 166, 721-728 (in Eng.).

[14] Baganz F., Hayes A., Marren D., Gardner D.C., et al. Suitability of replacement markers for functional analysis studies in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **1997**, 13, 1563-1573 (in Eng.).

[15] Walker M.E., Gardner J.M., Vystavelova A., McBryde C., et al. Application of the reusable, KanMX selectable marker to industrial yeast: construction and evaluation of heterothallic wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*, possessing minimal foreign DNA sequences. *FEMS Yeast Res.*, **2003**, 4, 339-347 (in Eng.).

[16] Hong J., Tamaki H., Akiba S., Yamamoto K., et al. Cloning of a gene encoding a highly stable endo-1,4- β -glucanase from *Aspergillus niger* and its expression in yeast. *J. Biosci. Bioeng.*, **2001**, 92, 434-441 (in Eng.).

[17] Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **1976**, 72, 248-254 (in Eng.).

[18] Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **1970**, 227, 680-685 (in Eng.).

[19] Michaelis S., and Herskowitz I., et al. The a-factor pheromone of *Saccharomyces cerevisiae* is essential for mating. *Mol. Cell Biol.*, **1988**, 8(3), 1309-1318 (in Eng.).

[20] Strazdis J.R., MacKay V.L. Induction of yeast mating pheromone a-factor by alpha cells. *Nature*, 1983, 305(5934), 543-545 (in Eng.).

[21] Taipakova S.M., Smailov B.B., Stanbekova G.E., Bissenbaev A.K. Cloning and expression of *Lentinula edodes* cellobiohydrolase gene in *E. coli* and characterization of recombinant enzyme. *Journal of Cell and Molecular biology*, Turkey, **2011**, 9(1), 53-63 (in Eng.).

[22] Taipakova S.M., Bissenbaev A.K. Cloning and expression of DNA ce cel7A of mushroom *Lentinula edodes* in the pro-and eukaryotic systems and studying of the physicochemical properties of the recombinant enzyme. *News of the National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biological and medical*, **2012**, 3(291), 39-46 (In Russ.).

[23] Kasturi L., Chen H., Shakin-Eshleman S.H. Regulation of N-linked core glycosylation: use of a site-directed mutagenesis approach to identify Asn-Xaa-Ser/Thr sequons that are poor oligosaccharide acceptors. *Biochem. J.*, **1997**, 32, 415-419 (in Eng.).

**АШЫТҚЫЛАР ХРОМОСОМАСЫНЫҢ *HO* ЛОКУСЫНА БАҒЫТТАЛҒАН
ИНТЕГРАЦИЯЛЫҚ ЭКСПРЕССИЯЛАУШЫ ВЕКТОРДЫ ҚҰРАСТЫРУ****С. М. Тайпақова, И. Т. Сметенов, А. Қ. Қуанбай, А. С. Бурибаева, А. К. Бисенбаев***ЕМК «Биология және биотехнология мәселелері ғылыми-зерттеу институты»
аль-Фараби ат. ҚазҰУ, Алматы, Қазақстан**Түйін сөздер:** *HO* локус, геномды интеграция, секреция, целлобиогидролаза, *Lentinula edodes*; *Saccharomyces cerevisiae*.**Аннотация.** Гендік инженерия әдістерінің көмегімен құрамында ашытқылар α -факторының сигналдық пептиді, Мус-эпитобы және гистидинді құйрығы бар және *L. edodes* саңырауқұлағының *cel7A* целлобиогидролаза гені қосылған рНО-GAPDH- α -*cel7A*-мус-6His-KanMX4-НО интегралдық конструкция құрастырылды. Хромосомасында *L. edodes* саңырауқұлағының *cel7A* целлобиогидролаза гені бар ашытқылардың жаңа тұрақты штамдары алынды. *L. edodes* саңырауқұлағының *cel7A* целлобиогидролаза генінің ашытқылар геномының *HO* локусындағы хромосомалық интеграциясы ПЦР әдісімен дәлелденді. Бұл штамм *cel7A* целлобиогидролаза генінің үздіксіз экспрессиясын және ген өнімінің қоршаған ортаға секрециялануын қамтамасыз етеді. Ген құрамындағы мус-эпитоп мус-эпитобына тән антиденелерімен иммуноблотинг жасау арқылы ген экспрессиясын бақылауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, геннің *S*-соңында 6xHis-құйрығының болуы белокты өнімді никельге негізделген аффиндік хроматография әдісімен тазартып алуға жағдай туғызады.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 15 – 20

**INTRODUCTION TO CULTURE OF IN VITRO
OF BERBERIS KARKARALENSIS KORN. ET POTAP.****G. K. Asanova, Z. K. Shaushekov, I. O. Baitulin, S. M. Adekenov**

JSC “International Research and Production Holding “Phytochemistry”, Karaganda, Kazakhstan.

E-mail: arglabin@phyto.kz

Keywords: *Berberis karkaralensis* Korn. et Potap., endangered and rare species, explant, callus formation.**Abstract.** The article presents the results of experiments on the cultivation of rare and endangered species of plants in Central Kazakhstan of *Berberis karkaralensis* in the in vitro conditions. Sterilization conditions of explant young shoots of *Berberis karkaralensis* with various sterilizing agents are selected. Primary callus culture of *Berberis karkaralensis* on the modified Murashige and Skoog agar with a hormonal background is received: NAA 1 mg/l: BAP 1 mg/l NAA 2 mg/l: BAP 0.5 mg/l. Influence of various phytohormones, their combination and concentration on processes of growth and development of callus tissue is studied. The results of the dynamic of cell culture growth activity of *Berberis karkaralensis* in the presence of various concentrations of BAP and NAA are given.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* БАРБАРИСА КАРКАРАЛИНСКОГО (*BERBERIS KARKARALENSIS* KORN. ET POTAP.)

Г. К. Асанова, З. К. Шаушеков, И. О. Байтулин, С. М. Адекенов

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Ключевые слова: барбарис каркаралинский, исчезающий и редкий вид, эксплант, каллусогенез.

Аннотация. Приведены данные экспериментов по культивированию редкого и исчезающего вида растений Центрального Казахстана барбариса каркаралинского (*Berberis karkaralensis* Korn. et Potap.) в условиях *in vitro*. Подобраны условия стерилизации эксплантов молодых побегов барбариса каркаралинского с применением различных стерилизующих агентов. Получена первичная каллусная культура барбариса каркаралинского на модифицированной среде Мурасиге и Скуга с гормональным фоном: НУК 1 мг/л : БАП 1 мг/л, НУК 2 мг/л : БАП 0,5 мг/л. Изучено влияние различных фитогормонов, их сочетаний и концентраций на процессы роста и развития каллусных тканей. Приведены результаты изучения динамики ростовой активности культуры клеток барбариса каркаралинского в присутствии различных концентраций БАП и НУК.

Сохранение биологического разнообразия – одна из важнейших задач в деле охраны природы, которой уделяют большое внимание во всем мире. Важность сохранения биоразнообразия воспринята людьми, как на планетарном, так и на национальном уровнях. Об этом свидетельствует принятая на Генеральной ассамблее Международного союза биологических наук при поддержке ЮНЕСКО Международная программа "DIVERSITAS", Международная Конвенция о сохранении биологического разнообразия и Постановление Правительства Республики Казахстан [1, 2].

Вышеперечисленные программные документы предлагают в качестве мер по сохранению биоразнообразия, в частности разнообразия флоры, использование методов *ex situ* (создание ботанических садов, хранилищ зародышевой плазмы и др.) и *in situ* (образование на территории государств заповедников, заказников и других природоохранных зон). Но, наряду с традиционными способами сохранения растений *ex situ* и *in situ*, все большее значение приобретает использование для этих целей методов биотехнологии, в частности, методик культивирования изолированных тканей и органов.

Барбарис каркаралинский (*Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov) – очень редкий, узкоэндемичный вид, растет в Центральном Казахстане в Каркаралинских горах. Это реликт хвойно-лиственных лесов четвертичного периода. Произрастает в горно-сопочных борах, на щебенистых склонах, гранитах, на высоте 600–1000 м над уровнем моря под пологом редких сосен вместе с другими видами кустарников. Мезоксерофильный кустарник высотой до 0,7–2 м, ветви его покрыты серой корой, а годовичные побеги – красновато-коричневые, блестящие. Соцветие – немногочетковая кисть с 5, 9 желтыми цветками. Чашелистики яйцевидные, лепестки обратнойцевидные, плоды продолговато-обратнойцевидные, ярко-красные, односемянные или частично без семян [3–5].

Подробное изучение онтогенеза и биологии этого вида в условиях Карагандинского ботанического сада проводились в 1985–1990 годах Р. О. к.б.н., Мынбаевой под руководством профессора А. Н. Куприянова [6, 7].

Барбарис каркаралинский относится к растениям, которые нуждаются в сохранении и восстановлении популяции, так как вид находится на грани исчезновения. Его можно отнести к одной из наиболее уязвимых категорий редкости, принятой в Красных книгах Казахстана.

В связи с вышесказанным нами поставлена цель - оптимизация условий получения и культивирования каллусных культур редкого и эндемичного вида барбариса каркаралинского и включение его в коллекцию *in vitro*.

На этапах исследований решали следующие задачи

- определить оптимальные режимы стерилизации эксплантов;
- изучить степень каллусогенеза при использовании различных стимуляторов роста;
- изучить динамику роста каллусных тканей барбариса каркаралинского.

Материалы и методы исследований

В работе для получения первичных каллусных тканей использованы молодые однолетние побеги барбариса каркаралинского (*Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov). По литературным данным, в большинстве случаев, при использовании молодых побегов образования каллуса происходит быстрее и степень контаминаций ниже, чем на одревесневших побегах [8–10].

Подготовку эксплантов и введение их в культуру *in vitro* производили в стерильных условиях согласно общепринятым рекомендациям [11]. В качестве субстрата для эксплантов и культивирования каллусных тканей барбариса каркаралинского использовали питательную среду Мурасиге и Скуга [12]. Из фитогормонов использовали ауксин – нафтилуксусная кислота (НУК) и цитокинин – 6-бензиламинопуридин (БАП) в различных концентрациях.

В качестве стерилизующих агентов использовали спирт, раствор сулемы (0,1%) и гипохлорид кальция (40%).

Индукцию каллусогенеза оценивали в процентах как отношение числа эксплантов с каллусом к общему числу эксплантов. Скорость роста измеряли через каждые 3 суток и оценивали по истечении 30 суток субкультивирования по значению ростового индекса (РИ), вычисляемого по формуле:

$$РИ = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\%,$$

где W_0 – начальная масса экспланта; W_1 – масса каллуса в конце цикла культивирования.

Влияние вариантов фитогормонов на прирост каллусных тканей проводили в 5-кратной повторности с вычислением ошибки средней арифметической. Все результаты исследований обрабатывались стандартными биометрическими методами [13].

Результаты и их обсуждение

В процессе введения в культуру необходимо было оптимизировать стерилизацию эксплантов изучаемого растения в зависимости от стерилизующих агентов и стимуляторов роста. Нами было исследовано действие различных дезинфицирующих агентов: гипохлорида натрия, сулемы и этанола.

В качестве эксплантов использовали сегменты листа и стеблей молодых побегов исследуемого растения. После стерилизации и пассажа в субстрат, через пять суток определяли степень зараженности эксплантов чужой микрофлорой (таблица 1).

Таблица 1 – Степень контаминации эксплантов барбариса каркаралинского

| Стерилизующий агент | Концентрация, % | Экспозиция | Контаминация, % |
|------------------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| Гипохлорид кальция Этанол | 10 70 | 5 мин 5 сек | 11±3,9 |
| Сулема Этанол | 0,1 70 | 3 мин 5 сек | 8,4±2,6 |
| Этанол | 70 | 10 сек | 68,5±3,4 |

При введении в культуру участков молодых побегов выявлено, что наиболее приемлемой оказалась двухступенчатая стерилизация: 1) $HgCl_2$ 0,1% в течение 3 мин; 2) этанол 70% в течение 5 секунд. При этом достигается наиболее высокий процент живых, незараженных эксплантов.

Каллусная ткань была получена в результате каллусогенеза из молодых побегов на среде, содержащей НУК и БАП. На начальных стадиях развития наблюдалось увеличение общего объема площади эксплантов. На сегментах эксплантов листовой пластины образования каллусов не наблюдалось. Формирование каллусов происходило на узловых сегментах и стебельках листа (рисунок 1, 2).



Рисунок 1 – Образование каллусов на узловых сегментах стебля барбариса каркаралинского



Рисунок 2 – Образование каллусов в стебельках листа барбариса каркаралинского

Каждую неделю в ходе культивирования проводили учет результатов экспериментов, отмечая появление на эксплантах недифференцированной ткани. В конце третьей недели культивирования на среде для инициации, отмечается развитие базального каллуса на эксплантах (таблица 2).

Таблица 2 – Степень каллусогенеза эксплантов барбариса каркаралинского

| Фитогормоны | Каллусогенез, % |
|-----------------------------|-----------------|
| НУК 3 мг/л : БАП 1 мг/л | 12,0±2,5 |
| НУК 1 мг/л : БАП 1 мг/л | 78,7±2,4 |
| НУК 2 мг/л : БАП 0,5 мг/л | 56±0,9 |
| НУК 0,5 мг/л : БАП 0,5 мг/л | 23,4±3,6 |
| НУК 0,5 мг/л : БАП 2 мг/л | 10,8±4,5 |

Первичный каллус, полученный из эксплантов, отличался нестабильностью окраски, консистенции и структурированности. В целом можно отметить, что преобладание в среде гормоном ауксиновой природы приводило к образованию оводненного каллуса, большей частью бесцветного или белого, или желтоватого. В нескольких случаях было зафиксировано образование каллуса бурой и буро-зеленой окраски. Где преобладает БАП каллусы более плотные и плохо растут.



Рисунок 3 – Каллусные ткани барбариса каркаралинского (*Berberis karkaralensis* Korn.et Potap.)

Семена оказались непригодными для каллусообразования, поскольку они не проросли ни на одной из использованных сред.

Каллусы, полученные на среде МС с фитогормонами НУК 1 мг/л : БАП 1 мг/л и НУК 2 мг/л : БАП 0,5 мг/л, имеют наилучшие морфологические характеристики: однородную консистенцию, светло-зеленый, местами бурый и темно-бордовый цвет, средне глобулярные (рисунок 3).

Таким образом, получена первичная каллусная культура редкого и эндемичного вида барбариса каркаралинского на среде Мурасиге и Скуга с гормональным фоном БАП – 1 мг/л, НУК – 1 мг/л и БАП – 0,5 мг/л, НУК – 2 мг/л.

Изучена динамика ростовой активности культуры клеток барбариса каркаралинского в присутствии различных концентраций БАП и НУК. Полученные результаты представлены на рисунке 4.

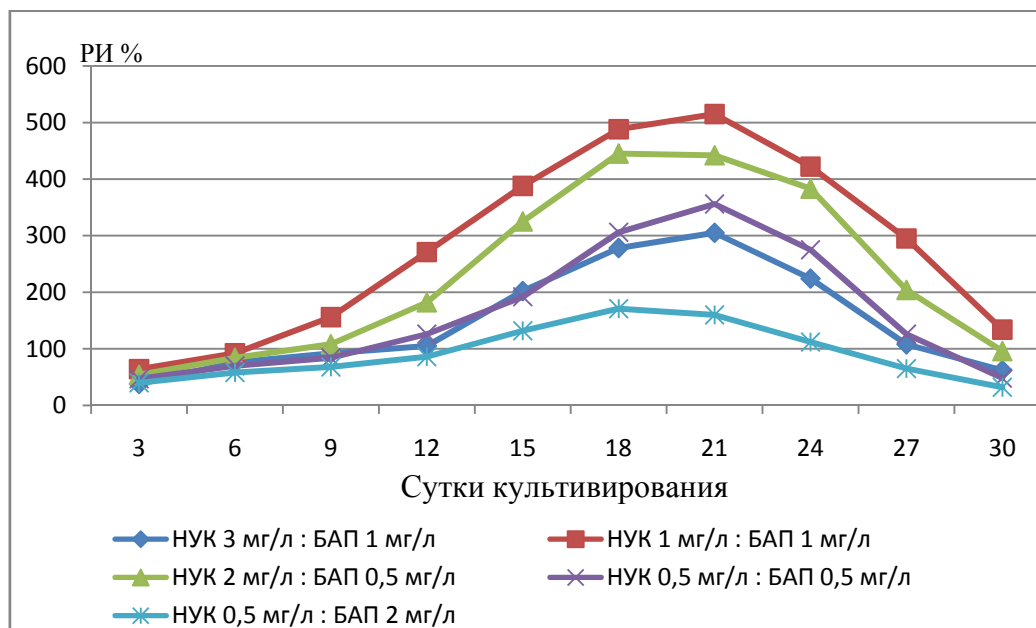


Рисунок 4 – Динамика ростовой активности каллусной ткани барбариса каркаралинского в присутствии различных концентраций фитогормонов

Из пяти вариантов сочетания фитогормонов оптимальными для роста каллусных тканей барбариса каркаралинского являлись НУК 1 мг/л : БАП 1 мг/л, т.к. при этом ростовая активность культуры составляло 515 %. Своего максимума значения ростового индекса достигает на 21 сутки культивирования. На НУК 2 мг/л : БАП 0,5 мг/л тоже каллусы растут не плохо, здесь пик ростового индекса показан на 17, 18 сутки. Кривые роста культуры клеток барбариса каркаралинского в присутствии больших концентраций БАП отражают почти линейный прирост биомассы, в котором сложно выделить какие-либо фазы, кроме фазы некроза культуры.

Таким образом, в результате проведенного исследования определено, что оптимальным для роста каллусной ткани барбариса каркаралинского является содержание в питательной среде 1 мг/л БАП и 1 мг/л НУК, при этом пик ростовой активности происходит на 21 сутки культивирования.

Выводы. На основании вышеприведенных экспериментов определено, что наилучшим условием для стерилизации эксплантов молодых побегов барбариса каркаралинского является двухступенчатая стерилизация: 1) HgCl_2 0,1% в течение 3 мин; 2) этанол 70% в течение 5 секунд.

Получена первичная каллусная культура редкого и эндемичного вида барбариса каркаралинского на среде Мурасиге и Скуга с гормональным фоном НУК – 1 мг/л : БАП – 1 мг/л и НУК – 2 мг/л : БАП – 0,5 мг/л.

Определено, что оптимальной концентрацией для роста каллусных тканей барбариса каркаралинского является НУК 1 мг/л : БАП 1 мг/л, т.к. при этом ростовая активность культуры составляет 515 %, своего максимума значения ростового индекса достигает на 21 сутки культивирования.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Национальная Стратегия и План действий по сохранению и сбалансированному использованию биологического разнообразия. – Алматы, 1999. – 336 с.

[2] Об утверждении Перечней редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений и животных // Постановление Правительства Республики Казахстан от 31 октября 2006 года № 1034.

[3] Корнилова В.С. *Berberis karkaralensis* Korn. et Potap. sp.nova // Флора Казахстана, Алма-Ата: Наука, 1961. – Т. 4. – С. 522-523.

[4] Красная книга Казахской ССР. – Ч. 2: Растения. – Алма-Ата, 1981. – 284 с.

[5] Dzhangaliev A.D. Salova T.N., Turekhanova P.M. The Wild Fruit and Nut Plants of Kazakhstan // Horticultural Reviews. – 2003. – Vol. 29. – P. 305-371.

[6] Мынбаева Р.О. Сохранение редких и эндемичных растений Казахстана в культуре // Тезисы докл. регион. конф. «Научно-технические проблемы промышленной ботаники в Казахстане». – Караганда, 1991. – 34 с.

- [7] Мынбаева Р.О., Куприянов А.Н., Адекенов С.М. Биоморфологические особенности *Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov в культуре // Рукопись депонир. В КазГосИНТИ. 08.02.96 г. № 6718-Ка-1996. – 12 с.
- [8] Samyn G., De Schepper S., Van Bockstaele E. Adventitious shoot regeneration and appearance of sports in several *azalea* cultivars // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* – 2002. – Vol. 70. – P. 223-227.
- [9] Якимова О.В., Егорова Н.А. Индукция каллусогенеза в культуре изолированных органов *Origanum vulgare* L. // Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2014. – Вып. 2. – С. 81-86.
- [10] Быструшкин А.Г. Размножение *in vitro* редких и находящихся на грани исчезновения эндемичных Уральских видов рода *Eritrichium*. – М.: Биотехнология. – 2008. – Вып. 11. – С. 34-36.
- [11] Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 158 с.
- [12] Murashige I. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiology Plant.* –1962. – N 6. – P. 473-497.
- [13] Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Наука, 1990. – 352 с.

REFERENCES

- [1] Nacional'naja Strategija i Plan dejstvij po sohraneniu i sbalansirovannomu ispol'zovaniju biologicheskogo raznobraziya. Almaty, 1999. 336 s. (in Russ.).
- [2] Ob utverzhdenii Perechnej redkih i nahodjashhihsja pod ugrozoi ischeznovenija vidov rastenij i zhivotnyh. Postanovlenie Pravitel'stva Respubliki Kazahstan ot 31 oktjabrja 2006 goda #1034 (in Russ.).
- [3] Kornilova V.S. *Berberis karkaralensis* Korn. et Potap. sp.nova // *Flora Kazahstana*. Alma-Ata: Nauka, 1961. Vol. 4. P. 522-523 (in Russ.).
- [4] Krasnaja kniga Kazahskoj SSR. Ch. 2: Rastenija. Alma-Ata, 1981. 284 s. (in Russ.).
- [5] Dzhangaliev A.D. Salova T.N., Turekhanova P.M. The Wild Fruit and Nut Plants of Kazakhstan. *Horticultural Reviews*. 2003. Vol. 29. P. 305-371.
- [6] Мынбаева Р.О. Сохранение редких и эндемичных растений Казахстана в культуре. Тезисы докл. регион. конф. «Научно-технические проблемы промышленной ботаники в Казахстане». Караганда, 1991. 34 с. (in Russ.).
- [7] Мынбаева Р.О., Куприянов А.Н., Адекенов С.М. Биоморфологические особенности *Berberis karkaralensis* Kornilova et Potapov в культуре. Рукопись депонир. В КазГосИНТИ. 08.02.96 г. № 6718-Ка-1996. 12 с. (in Russ.).
- [8] Samyn G., De Schepper S., Van Bockstaele E. Adventitious shoot regeneration and appearance of sports in several *azalea* cultivars. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2002. Vol. 70. P. 223-227.
- [9] Jakimova O.V., Egorova N.A. Indukcija kallusogeneza v kul'ture izolirovannyh organov *Origanum vulgare* L. Nauchno-tehnicheskij bjulleten' Vserossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnyh kul'tur. 2014. Vyp. 2. P. 81-86 (in Russ.).
- [10] Bystrushkin A.G. Razmnnozenie *in vitro* redkih i nahodjashhihsja na grani ischeznovenija jendemichnyh Ural'skih vidov roda *Eritrichium*. Moskva, Biotehnologija. 2008. Vyp. 11. S. 34-36 (in Russ.).
- [11] Butenko, R.G. Biologija kletok vysshih rastenij *in vitro* i biotehnologii na ih osnove. M.: FBK-PRESS, 1999. 158 s. (in Russ.).
- [12] Murashige I. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant.* 1962. N 6. R. 473-497.
- [13] Lakin G.F. Biometrija. M.: Nauka, 1990. 352 s. (in Russ.).

ҚАРҚАРАЛЫ БӨРІҚАРАҚАТЫ ӨСІМДІГІН (*BERBERIS KARKARALENSIS* KORN. ET POTAP.) IN VITRO ДАҚЫЛҒА ЕНГІЗУ

Г. Қ. Асанова, З. Қ. Шәушеков, И. О. Байтулин, С. М. Әдекенов

«Фитохимия» Халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қарағанды, Қазақстан

Түйін сөздер: қарқаралы бөріқарақаты, жойылып бара жатқан және сирек кездесетін түр, эксплант, каллус түзу.

Аннотация. Мақалада Орталық Қазақстанның сирек кездесетін және жойылып бара жатқан өсімдік түрі қарқаралы бөріқарақатын (*Berberis karkaralensis* Korn. et Potap.) *in vitro* жағдайында өсіру бойынша эксперименттердің маліметтері берілген. Қарқаралы бөріқарақатының жас өркендерінің экспланттарын әртүрлі зарарсыздандырғыш агенттерді қолдана отырып зарарсыздандыру жағдайлары таңдап алынды. Модифицирленген Мурасиге және Скуг қоректік ортасында НСҚ 1 мг/л : БАП 1 мг/л, НСҚ 2 мг/л : БАП 0,5 мг/л фитогормондарын қолдана отырып біріншілік каллустық ұлпалары алынды.

Әртүрлі фитогормондардың және олардың үйлесімдері мен концентрацияларының каллустық ұлпалардың өсуі мен дамуына әсері зерттелді. Қарқаралы бөріқарақатының жасуша дақылдарының БАП пен ИСҚ-ның әртүрлі концентрацияларының қатысуымен өсу динамикасын зерттеу нәтижелері келтірілген.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 21 – 26

**STUDY OF VIRAL DIVERSITY
OF KAPCHAGAI RESERVOIR****M. S. Alexyuk, P. G. Alexyuk, A. P. Bogoyavlenskiy,
Zh. Zh. Zhumanov, E. S. Omirtayeva, V. E. Berezin**Institute of microbiology and virology, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: virprot@mail.ru, anpav_63@mail.ru**Key words:** ecosystems, bioindication, metagenomic analysis, viruses.

Abstract. The increasing human pressure on the natural habitat increases the need to study the viral diversity of reservoirs, as virological studies of hydrosphere ecosystems are not only an important part of studying the biodiversity of environmental, but also one of the parameters of diagnosing the ecological status of aquatic ecosystems. The aim of this research was to study the diversity of allochthonous and autochthonous viruses of Kapchagai reservoir.

As a result of research using methods of metagenomic analysis, it was found that the virus composition of Kapchagai reservoir is represented not only a wide variety of autochthonous viruses specific to phytoplankton, but also representatives of allochthonous viruses indicates contamination by products of anthropogenic load. Thus, the use of metagenomic analysis of viruses as a method of bioindication can be a good tool for identifying new and unusual, including potentially dangerous to human, animal and plant viruses, and to assess the degree of water pollution as a result of anthropogenic load.

УДК 578.832

**ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСНОГО РАЗНООБРАЗИЯ
КАПЧАГАЙСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА****М. С. Алексюк, П. Г. Алексюк, А. П. Богоявленский,
Ж. Ж. Жуманов, Э. С. Омиртаева, В. Э. Березин**

РГП на ПХВ «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: экосистема, биоиндикация, метагеномный анализ, вирусы.

Аннотация. Возрастающая антропогенная нагрузка на естественную среду обитания увеличивает необходимость изучения вирусного разнообразия водоемов, так как вирусологические исследования экосистем гидросферы являются не только важной частью изучения биоразнообразия окружающей среды, но и одним из параметров диагностирования экологического состояния водных экосистем. Целью настоящих исследований было изучение разнообразия аллохтонных и автохтонных вирусов Капчагайского водохранилища.

В результате проведенных исследований с использованием методов метагеномного анализа было установлено, что состав вирусов Капчагайского водохранилища представлен не только широким разнообразием автохтонных вирусов, характерных для фитопланктона гидроэкосистем, но и представителями аллохтонных вирусов, что свидетельствует о загрязненности данного водоема продуктами антропогенной деятельности. Таким образом, использование метагеномного анализа вирусов в качестве метода биоиндикации может являться хорошим инструментом как для выявления новых и необычных, в том числе потенциально опасных для человека, животных и растений вирусов, так и для оценки степени загрязненности водоемов в результате хозяйственной деятельности человека.

Введение. Гидросфера как важнейший компонент биосферы планеты и источник ресурсов имеет глобальное экологическое, экономическое и социальное значение. Обеспеченность информацией о состоянии и динамике экологического баланса гидросферы все еще остается недостаточной и не отвечает современным требованиям устойчивого управления водными ресурсами, охраны окружающей среды и исследований в области глобальных изменений биосферы и климата планеты. Это связано с комплексом причин, основной из которых является незамкнутость системы, между ареалами которой существует тесная взаимосвязь, обуславливающая единство гидросферы и ее взаимодействие с другими геосферами [1]. Всестороннее изучение состояния экосистем гидросферы является актуальной проблемой биологических, медицинских, сельскохозяйственных и геолого-минералогических дисциплин. За последнее время доказано, что вирусы являются не только неотъемлемой частью существования всех экосистем, но и самой многочисленной группой организмов в любой экосистеме. Возрастающая антропогенная нагрузка на естественную среду обитания и разработка новых биотехнологических препаратов, в технологии производства которых используются микроорганизмы пресноводных и морских водоемов, увеличивает необходимость изучения вирусного разнообразия водоемов, т.к. при разработке подобных препаратов не учитываются проблемы биобезопасности, что может привести к появлению новых инфекционных заболеваний [2]. Вирусологические исследования экосистем гидросферы являются не только важной частью изучения биоразнообразия окружающей среды, но и одним из параметров диагностирования экологического состояния водных экосистем [3-5]. Целью настоящих исследований было изучение разнообразия аллохтонных и автохтонных вирусов Капчагайского водохранилища.

Материалы и методы. Сбор образцов производили в Капчагайском водохранилище недалеко от береговой линии города Капчагай, координаты места сбора 43°52'53,5" северной широты, 77°16'24,9" восточной долготы (рисунок 1).

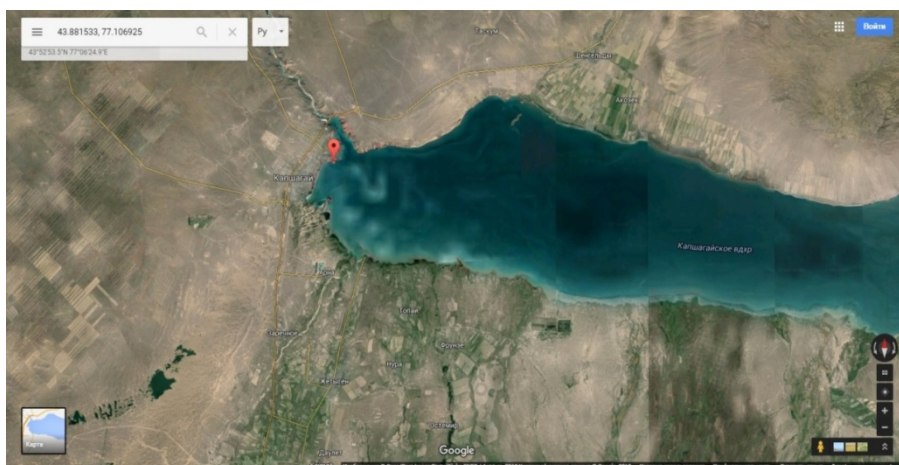


Рисунок 1 – Место сбора образцов на Капчагайском водохранилище

Пробы воды из Капчагайского водохранилища были отобраны в летнее время, что соответствовало среднему количеству микрофлоры водоема в средне-сезонном значении. Отобранные пробы воды последовательно фильтровали через поликарбонатные фильтры (Millipore) с диаметром пор 1,2; 0,8; и 0,2 мкм с последующим осаждением методом ультрацентрифугирования. Из полученных образцов выделяли суммарную ДНК, которую затем анализировали методом полногеномного секвенирования на ДНК-секвенаторе «Illumina». Риды собирали программой «Edena», так как она позволяет варьировать минимальную длину общей части ридов, при которой они будут считаться пересекающимися. С целью нахождения наибольшего числа бактериофагов необходимое пересечение ридов было установлено в 35 нуклеотидов. Для поиска применяли программу «Blastn, NCBI», версия standalone 2.2.30. В качестве источника вирусных геномов использовалась база данных «NCBI nucleotide», содержащая 6079 полных геномов вирусов. Метагеномный анализ полученных результатов из 15501346 нуклеотидов проводили программами «MetaVIR» и «Crona» [6-8].

Результаты и обсуждение. Изучение разнообразия вирусов Капчагайского водохранилища с помощью метагеномного анализа показало, что среди обнаруженных 36102 вирусов 2% были представлены аллохтонными и 98% автохтонными вирусами (рисунок 2).

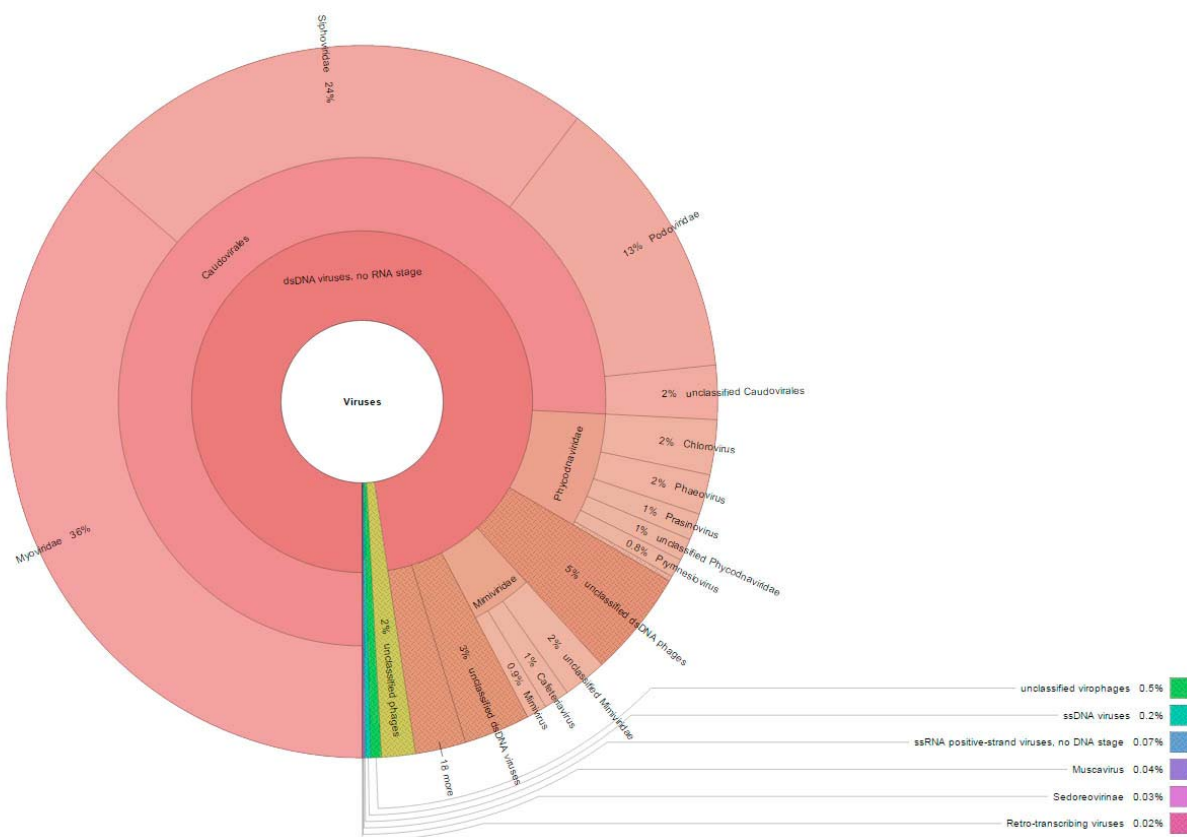


Рисунок 2 – Разнообразие вирусов Капчагайского водохранилища

Автохтонные вирусы являются паразитами основных обитателей нано- и пикопланктона: бактерий, простейших и микроводорослей. Вирусы простейших были представлены семейством *Mimiviridae* и составляли около 6,5%, из которых 1% включал представителей рода *Cafeteriavirus* и 0,9% - рода *Mimivirus*. Вирусы бактерий были представлены отрядом *Caudovirales* (хвостатые фаги), состоящим из семейств: *Podoviridae* (13%), *Siphoviridae* (24%) и *Myoviridae* (36%). Также были обнаружены вирусы семейства *Phycodnaviridae*. Члены данного семейства инфицируют эукариотические водоросли, что делает их интересными с точки зрения их экологической функции. Имеются данные о том, что вирусы данного семейства являются активными участниками в инициации процессов начала и прекращения цветения воды [9]. Следует отметить, что более 10% вирусов остались неклассифицированными, т.е. они ранее не были описаны в доступной литературе и не содержатся в информационных базах данных.

При изучении разнообразия вирусов в Капчагайском водохранилище настораживает тот факт, что, несмотря на кажущуюся малочисленность, всего 2%, среди аллохтонных вирусов диагностированы вирусы различных семейств, способных вызывать инфекции человека, животных и растений, что говорит о выраженном антропогенном влиянии на гидросферу водохранилища.

Так, метагеномный анализ генетического материала, выделенного из исследуемых проб воды, показал наличие семейств *Coronavirinae*, *Mesoniviridae* и *Retroviridae* (рисунок 3, 4).

Семейство коронавирусов было представлено подсемейством *Coronavirinae*, включающим РНК-содержащие плеоморфные вирусы средней величины. Было обнаружено два рода: *Betacoronavirus* (7 видов) и *Gammacoronavirus* (2 вида).

Генетический материал рода *Betacoronavirus* принадлежал вирусу *Human coronavirus HKU1*. Данный вирус способен вызывать острые воспалительные процессы дыхательных путей, и был



Рисунок 3 – Нидовирусы Капчагайского водохранилища



Рисунок 4 – Ретровирусы Капчагайского водохранилища

впервые выделен в 2005 году в Гонгконге из носоглоточных смывов 71-го летнего мужчины, госпитализированного с диагнозом двусторонняя пневмония с острой лёгочной недостаточностью [10].

Род *Gammacoronavirus* был представлен коронавирусом белухи К1. Данный вирус был впервые выделен в 2008 году от 13 летней особи белухи, погибшей в результате генерализованной лёгочной инфекции [11].

Семейство *Mesoniviridae* – это новое семейство вирусов комаров, обнаруженное в 2011 году в странах юго-восточной Азии. Два вида этого семейства, выявленные в водных пробах Капчагайского водохранилища – вирус *Meno* и вирус *Hana*, были впервые выделены и описаны в 2013 году. Вирусы данного семейства имеют сферическую форму, диаметром 60–80 нм, генетический материал данных вирусов представлен позитивной, одноцепочечной линейной РНК [12].

Семейство *Retroviridae* в собранных образцах было представлено двумя подсемействами: *Orthoretrovirinae* и *Spumaretrovirinae*. Подсемейство *Orthoretrovirinae* включало три вида вирусов: вирус иммунодефицита кошки, ретровирус рыбы змейголова и эндогенный вирус бабуинов.

Подсемейство *Spumaretrovirinae* (или пенящиеся вирусы) представляет собой оболочечные вирусы с двунитовой молекулой ДНК. Это подсемейство вирусов имеет широкое распространение и поражает сельскохозяйственные виды домашних животных. В пробах воды из Капчагайского водохранилища было обнаружено два вида данного подсемейства: пенящийся вирус крупного рогатого скота и пенящийся вирус лошадей. Данное подсемейство вирусов впервые было описаны в 1954 году и выделены в 1971. Данные вирусы очень распространены и поражают различных представителей млекопитающих [13].

Также биоинформатическая обработка полученного генетического материала показала наличие вируса гепатита сурков (*Woodchuck hepatitis virus*), который является первым представителем гепадновирусов млекопитающих и птиц, описанных после открытия вируса гепатита В [14].

Таким образом, метагеномный анализ состава вирусов Капчагайского водохранилища показал не только широкое разнообразие автохтонных вирусов, характерных для фитопланктона гидроэкосистем, но и свидетельствует о загрязненности данного водоема продуктами антропогенной деятельности. Использование метагеномного анализа вирусов в качестве метода биоиндикации может являться хорошим инструментом как для выявления новых и необычных, в том числе потенциально опасных для человека, животных и растений вирусов, так и для оценки степени загрязненности водоемов в результате хозяйственной деятельности человека.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Черновский Л.А. Учение о гидросфере: Учеб. пособие. Новосибирск: СГГА, 2008. 172 с.
- [2] Шуйский В.Ф., Максимова Т.В., Петров Д.С. Биоиндикация качества водной среды, состояния пресноводных экосистем и их антропогенных изменений // Сб. научн. докл. VII междунар. конф. "Экология и развитие Северо-Запада России" – С.-Петербург, 2–7 авг. 2002 г. – 2002 г.
- [3] Wommack K.E., Colwell R.R. Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems // Microbiology and Molecular biology reviews. – 2000. – Vol. 64. – P. 69-114.
- [4] Djikeng A., Kuzmickas R., Anderson N.G., Spiro D.J. Metagenomic Analysis of RNA Viruses in a Fresh Water Lake // PLoS ONE. – 2009. – Vol. 4. – e7264.
- [5] Sorensen G. The role of the virus-phytoplankton system in marine biogeochemical cycling: possible impacts of climate change // The Plymouth Student Scientist. – 2009. – Vol. 2, N 2. – P. 289-302.
- [6] Roux S., Tournayre J., Mahul A., Debros D., Enault F. Metavir 2: new tools for viral metagenome comparison and assembled virome analysis // BMC Bioinformatics. – 2014. – Vol. 15. – P. 76-88.
- [7] Hernandez D., François P., Farinelli L., Ssterås M., Schrenzel J. De novo bacterial genome sequencing: Millions of very short reads assembled on a desktop computer // Genome Res. – 2008. – Vol. 18(5). – P. 802-809.
- [8] Ondov B.D., Bergman N.H., Phillippy A.M. Interactive metagenomic visualization in a Web browser // BMC Bioinformatics. – 2011. – Vol. 12. – P. 385-394.
- [9] Larsen J.B., Larsen A., Bratbak G., Sandaa R.A. Phylogenetic Analysis of Members of the Phycodnaviridae Virus Family, Using Amplified Fragments of the Major Capsid Protein // Gene Applied and environmental microbiology. – 2008. – Vol. 74, N 10. – P. 3048-3057.
- [10] Esper F., Weibel C., Ferguson D., Landry M.L., Kahn J.S. Coronavirus HKU1 Infection in the United States // Emerg Infect Dis. – 2006. – Vol. 12(5). – P. 775-779.
- [11] Mihindikulasuriya K.A., Wu G., Leger J.St., Nordhausen R.W., Wang D. Identification of a novel Coronavirus from a Beluga Whale by using a Panviral Microarray // J Virol. – 2008. – Vol. 82(10). – P. 5084-5088.
- [12] Vasilakis N., Guzman H., Firth C., Forrester N.L., Widen S.G., Wood T.G., Rossi S.L., Ghedin E., Popov V., Blasdel K.R., Walker P.J., Tesh R.B. Mesoniviruses are mosquito-specific viruses with extensive geographic distribution and host range // Virology Journal. – 2014. – Vol. 11. – 97 p.

- [13] M. L. Linal Foamy Viruses Are Unconventional Retroviruses // J. Virol. – 1999. – Vol. 73. – P. 1747-1755.
[14] Tennant B.C., Gerin J.L. The woodchuck model of hepatitis B virus infection // ILAR J. – 2001. – Vol. 42(2). – P. 89-102.

REFERENCES

- [1] Chernovskij L.A. Uchenie o gidrosfere ucheb. Posobie. Novosibirsk: SGGA, 2008. 172 s. (Russ.)
[2] Shujskij V.F., Maksimova T.V., Petrov D.S. Bioindikacija kachestva vodnoj sredy, sostojanija presnovodnyh jekosistem i ih antropogennyh izmenenij. Sb. nauchn. dokl. VII mezhdunar. konf. "Jekologija i razvitie Severo-Zapada Rossii". S.- Peterburg, 2–7 avg. 2002 g. – 2002 g. (Russ.)
[3] Wommack K.E., Colwell R.R. Virioplankton: Viruses in Aquatic Ecosystems, Microbiology and Molecular biology reviews. 2000. Vol.64. P. 69-114.
[4] Djikeng A., Kuzmickas R., Anderson N.G., Spiro D. J. Metagenomic Analysis of RNA Viruses in a Fresh Water Lake, PLoS ONE. 2009. Vol.4. e7264.
[5] Sorensen G. The role of the virus-phytoplankton system in marine biogeochemical cycling: possible impacts of climate change, The Plymouth Student Scientist. 2009. Vol. 2, № 2. P.289 - 302.
[6] Roux S., Tournayre J., Mahul A., Debroas D., Enault F. Metavir 2: new tools for viral metagenome comparison and assembled virome analysis, BMC Bioinformatics. 2014. 15:76-88.
[7] Hernandez D., François P., Farinelli L., Ssterås M., Schrenzel J. De novo bacterial genome sequencing: Millions of very short reads assembled on a desktop computer, Genome Res. 2008. Vol. 18(5). P. 802-809.
[8] Ondov B.D., Bergman N.H., Phillippy A.M. Interactive metagenomic visualization in a Web browser, BMC Bioinformatics. 2011. Vol. 12. P. 385-394.
[9] Larsen J.B., Larsen A., Bratbak G., Sandaa R.A. Phylogenetic Analysis of Members of the Phycodnaviridae Virus Family, Using Amplified Fragments of the Major Capsid Protein Gene Applied and environmental microbiology. 2008. Vol. 74, N 10. P. 3048-3057.
[10] Esper F., Weibel C., Ferguson D., Landry M.L., Kahn J.S. Coronavirus HKU1 Infection in the United States. Emerg Infect Dis. 2006. Vol. 12(5). P. 775-779.
[11] Mihindukulasuriya K.A., Wu G., Leger J.St., Nordhausen R.W., Wang D. Identification of a novel Coronavirus from a Beluga Whale by using a Panviral Microarray. J Virol. 2008. Vol. 82(10). P. 5084-5088.
[12] Vasilakis N., Guzman H., Firth C., Forrester N.L., Widen S.G., Wood T.G., Rossi S.L., Ghedin E., Popov V., Blasdel K.R., Walker P.J., Tesh R.B. Mesoniviruses are mosquito-specific viruses with extensive geographic distribution and host range. Virology Journal. 2014. Vol. 11. 97 p.
[13] M. L. Linal Foamy Viruses Are Unconventional Retroviruses. 1999. J. Virol. Vol. 73. P. 1747-1755.
[14] Tennant B.C., Gerin J.L. The woodchuck model of hepatitis B virus infection. ILAR J. 2001. Vol. 42(2). P.89-102.

ҚАПШАҒАЙ СУ ҚОЙМАСЫНЫҢ ВИРУСТЫҚ ӘРТҮРЛІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

М. С. Алексюк, П. Г. Алексюк, А. П. Богоявленский,
Ж. Ж. Жуманов, Э. С. Омиртаева, В. Э. Березин

РМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: экожүйе, биоиндикация, вирустар, метагеномды талдау.

Аннотация. Табиғи тіршілік ортаға ұлғаймалы антропогендік жүктеме су айдындарында вирустық әртүрлілікті зерттеу қажеттілігін арттырады, өйткені гидросфераның экожүйелерін вирусологиялық зерттеуі қоршаған ортаның биоалуантүрлілігін зерттеуде ғана маңызды емес, сонымен қатар су экожүйесінің экологиялық жай-күйін диагностикалаудағы параметрлері болып табылады. Осы зерттеулердің мақсаты Қапшағай су қоймасының аллохтонды және автохтонды вирустардың әртүрліліктерін зерттеу.

Метагеномды талдау әдістерін пайдалана отырып жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Қапшағай су қоймасының вирустар құрамы гидроэкожүйе фитопланктондарына тән автохтонды вирустардың кең түрлігімен ғана емес, сонымен қатар осы су қоймасы антропогенді қызмет арқасында ластануын дәлелдейтін аллохтонды вирустардың болуын анықтады. Осылайша, биоиндикация әдісі ретінде вирустардың метагеномды талдауын пайдалану жаңа және ерекше түрлерін, сонымен қатар адамға, жануарларға және өсімдіктерге қауіпті вирустарды табуда, сондай-ақ адамның шаруашылық қызметі нәтижесінде су қоймаларының ластану дәрежесін бағалауда жақсы құрал болып табылады.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 27 – 33

EFFECT OF THE FEED ADDITIVE BASED ON BENTONITE AND CHLORELLA BODY OF AGRICULTURAL ANIMALS AND BIRDS**A. Tursynova, N. S. Sunnenova, N. Erezhepova,
N. B. Sarsenbayeva, A. M. Kalekeshov, E. K. Makashev**

RSE on REM "Institute of Human and Animal Physiology" CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: i_phyz@mail.ru

Keywords: feed additive, broilers, laying hens, sheep.

Abstract. According to our research, in the blood plasma of a control group of animals there was a slight change in the content of albumin in swabs of red blood cells, and total protein significantly increased. The quantities of cholesterol and glucose did not change under the same conditions. The change of plasma parameters in a positive way with the introduction of the feed additive proves once again feeding value and safety of dietary supplements. The results of these studies suggest that the stabling of sheep inclusion in the diet of our supplements is the best solution for the prevention of disease and improve animal productivity.

The results of research on the content and feeding of feed additive breeder show that the optimal parameters of feeding and egg-laying hens had a positive impact on their productive qualities. Given the vitamin and mineral content of our feed additive, we can confidently replace part of the daily requirement of vitamins, minerals and protein. According to preliminary data supplements will ensure replenishment of protein deficiency and certain trace elements in feeding the farm animals and the most complete assimilation of animal feed. Increase the productivity of animals, reduce morbidity, improve the digestion of forage, prevent poisoning, stabilizes the correct protein metabolism, will increase the safety of livestock, slaughter yield and meat quality.

УДК 612.353.1.357

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ БЕНТОНИТА И ХЛОРЕЛЛЫ НА ОРГАНИЗМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ**А. Турсынова, Н. С. Сунненова, Н. Ережепова,
Н. Б. Сарсенбаева, А. М. Калекешов, Е. К. Макашев**

РГП на ПХВ «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: кормовая добавка, бройлер, несушки, овцы.

Аннотация. Как показали наши исследования, в плазме крови животных контрольной группы произошло незначительное изменение в содержании альбуминов в смывах эритроцитов, а общий белок незначительно увеличился. Величины холестерина и глюкозы при аналогичных условиях не менялись. Изменение показателей плазмы крови в положительную сторону при введении кормовой добавки еще раз доказывает кормовую ценность и безопасность БАД. Результаты проведенных исследований говорят о том, что при стойловых содержаниях овец включение в рацион нашего БАДа является лучшим решением для профилактики заболеваемости и повышения продуктивности животных.

Результаты научных исследований по содержанию и кормлению кормовой добавкой родительского стада показывают, что оптимальные параметры кормления и содержания кур-несушек оказали положительное влияние на их продуктивные качества. Учитывая витаминный и минеральный состав нашей кормовой

добавки, мы можем уверенно заменить часть суточной нормы витаминов, минералов и протеина. По предварительным данным, БАД обеспечит восполнение дефицита белка и некоторых микроэлементов в кормлении сельскохозяйственных животных и максимально полного усвоения корма животными. Повысит продуктивность животных, снизит заболеваемость, улучшит усвоения фуража, предотвратит отравления, стабилизирует правильный белковый обмен, повысит сохранность поголовья, убойный выход и качество мяса.

Введение. Эффективность получения качественной животноводческой продукции зависит от состава комбикормов. Поэтому большое значение имеют контрольные функции на всех стадиях их производства: сырье, технологический процесс и готовая продукция.

На современном этапе в практике животноводства повышение роста, развития, сохранности животных достигается применением безопасных, экологически чистых биологически активных веществ естественного происхождения. Поэтому изучение морфофункциональных и продуктивных показателей животных при скармливании новой кормовой добавкой является актуальным исследованием.

Кормовая добавка – препарат на основе бентонита и хлореллы, является как эффективный энтеросорбент для выведения из организма токсинов, иммуномодулятор, повышающий уровень естественной резистентности, способствующий повышению эффективности кормления [1]. Исследованием влияния бентонитовых глин в организм жвачных животных занимались и ученые лаборатории физиологии пищеварения. По данным Ташенова К.Т, Макашева Е.К., Фролова С.В. скармливание животным добавок из природных адсорбентов нормализует и улучшает биохимические и морфологические показатели крови и, как следствие, способствует формированию неспецифического иммунитета у животных [2–4]. Наряду с этими наблюдается лучший прирост животных, повышение переваримости и использования питательных веществ корма. По литературным данным, эксперименты по использованию их в качестве адсорбентов способствующих выведению из организма токсинов, тяжелых металлов и других веществ, а также как дополнительный источник макро- и микроэлементов для животных и птиц дали положительные результаты [5].

Методы исследования. Объектом исследований являлись овцы казахской тонкорунной породы. Для проведения эксперимента были сформированы 2 группы животных по 20 голов в каждой (контрольная и опытная). Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Животным контрольной группы в качестве основного рациона давали 2 кг сена, 0,5 кг комбикорма, воду. Таким образом, мы специально создавали зимнее стойловое содержание животных. Так как именно в это время животные подвергаются к нехватке витаминов и микроэлементов, и впоследствии к различным заболеваниям. Животные опытной группы, помимо основного рациона, получали кормовую добавку из расчета 5г на 1кг веса животных в сутки в течение месяца. До и после эксперимента измеряли вес животных. Через 30 дней в плазме крови определяли: общий белок, альбумин, глюкозу, щелочную фосфатазу, холестерин, триглицериды, АлАТ, АсАТ.

Результаты исследований и их обсуждение. Белки, сыворотки крови являются важной составной частью внутренней среды живого организма. Находясь в динамическом равновесии с белками тканей, сывороточные белки выполняют транспортную и защитную роль, которые оказывают выраженное влияние на процессы общего метаболизма и поэтому могут служить одним из критериев оценки состояния здоровья животных. В группе, где в рацион добавляли кормовую добавку содержание общего белка достоверно повысилось и составляло $27,5 \pm 1,7$ г/л. По сравнению с контролем это на 20% больше. Такие положительные изменения наблюдались и в остальных показателях крови.

Альбумин – основной белок плазмы крови, составляет 40–60% от общего количества белка плазмы. Снижение уровня альбумина (гипоальбуминемия) является распространенным признаком многих патологических состояний. Её причиной могут быть уменьшение поступления белков с пищей; сниженный синтез альбумина при патологии печени; увеличенный катаболизм белков при воспалении и повреждении тканей; повышенные потери белка при патологии кишечника или почек [6, 7]. Альбумины выделяют в отдельную группу белков в крови, которые дают более значимую информацию, нежели просто общий белок. Определение альбумина важно для диагностики

заболеваний печени и почек, ревматических, онкологических заболеваний. Пониженное содержание альбуминов наблюдается при гибели печеночных клеток, циррозе, недостаточном питании, нарушении всасывания, что свидетельствует о нарушении синтезирующей функции печени.

При недостаточном поступлении белка в организм происходит снижение скорости синтеза альбумина при одновременном увеличении его распада, а также перераспределение альбумина из интерстициального пространства в сосудистое русло. Поэтому динамика изменений уровня альбумина недостаточно надежна для быстрой оценки адекватности белкового питания. Но с другой стороны, определение содержания сывороточного альбумина позволяет выявить гипоальбуминемию, которая может свидетельствовать о длительном белковом голодании и позволяет определять среди больных группы «повышенного риска». Сывороточный альбумин снижается при уменьшении потребления белков и калорий и поднимается с увеличением их потребления [8, 9].

С целью изучения адаптивных механизмов организма мы провели исследования по определению адсорбционно-транспортной способности мембран эритроцитов крови (таблица 1, 2). Как показали наши исследования, в плазме крови животных контрольной группы произошло незначительное изменение в содержании альбуминов в смывах эритроцитов, а общий белок незначительно увеличился (рисунок). Величины холестерина и глюкозы при аналогичных условиях не менялась. Изменение показателей плазмы крови в положительную сторону при введении кормовой добавки еще раз доказывает кормовую ценность и безопасность БАД.

Результаты проведенных исследований говорят о том, что при стойловых содержаниях овец включение в рацион нашей БАД является лучшим решением для профилактики заболеваемости и повышения продуктивности животных.

Глюкоза. Для жвачных животных глюкоза является важнейшим метаболитом в синтезе компонентов молока. Из нее образуется практически вся лактоза, определяет объем секреции молочной железы; значительную долю глицерольной части триацилглицеролов молочного жира. В наших экспериментах на овцах мы видим незначительное повышение содержания глюкозы, что свидетельствует о положительных свойствах добавки по отношению к углеводам, которые играют немаловажную роль в организме жвачных животных.

Таблица 1 – Биохимические показатели плазмы крови овец контрольной группы

| Показатель | Контрольная группа (в начале опыта) | Контрольная группа (после 30 дней) |
|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Альбумины, г/л | 27,3±1,6 | 28,7±1,3 |
| Общий белок, г/л | 59,1±2,3 | 59,8±1,9 |
| Холестерол, мм/л | 2,3±0,3 | 2,5±0,2 |
| Глюкоза, мм/л | 4,5±0,7 | 4,9±0,6 |
| Триглицериды, мг/дл | 40,8±3,1 | 39,1±2,7 |
| Щелочная фосфатаза, U/L | 68,4±4,7 | 69,2±4,2 |
| АЛТ, U/L | 21,4±1,8 | 20,7±1,6 |
| АСТ, U/L | 52,9±4,1 | 53,5±3,8 |
| *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. | | |

Таблица 2 – Биохимические показатели плазмы крови овец опытной группы

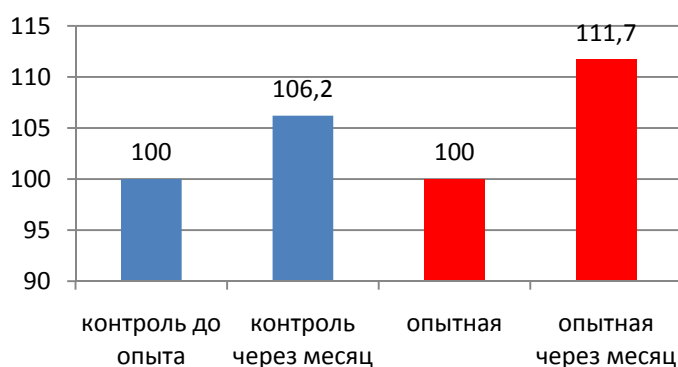
| Показатель | Опытная группа (до опыта) | Опытная группа (после 30 дней) |
|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Альбумины, г/л | 21,6±1,5 | 27,5±1,7* |
| Общий белок, г/л | 48,5±2,4 | 57,7±2,9* |
| Холестерол, мм/л | 2,1±0,4 | 2,8±0,3 |
| Глюкоза, мм/л | 3,5±0,7 | 4,6±0,6 |
| Триглицериды, мг/дл | 40,8±3,1 | 39,1±2,7 |
| Щелочная фосфатаза, U/L | 67,8±4,7 | 69,7±4,2 |
| АлАТ, U/L | 22,1±1,8 | 19,9±1,5 |
| АсАТ, U/L | 47,6±3,2 | 49,8±2,9 |
| *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. | | |

АлАТ или аланинаминотрансфераза – фермент печени, участвующий в обмене аминокислот. В большом количестве содержится АлАТ в печени, почках, в сердечной мышце, скелетной мускулатуре. При разрушении клеток этих органов, вызванных различными патологическими процессами, происходит выделение АлАТ в кровь, а анализ покажет высокий АлАТ в крови. В здоровом организме содержание показателя АлАТ в крови незначительно. Снижение уровня АлАТ наблюдаются при тяжелых заболеваниях печени – некроз, цирроз (при уменьшении количества клеток, синтезирующих АлАТ). Результаты анализа крови АлАТ покажет низкое содержание аланинаминотрансферазы при дефиците витамина В6. В наших экспериментах существенное изменение уровня АлАТ в крови не наблюдалось. Это доказывает безопасность кормовой добавки при введении в рацион животных.

В результате исследований установлено, что включение в состав рациона овец кормовой добавки позволяет получить больше прироста живой массы овец за месяц на 11,7%, составляя среднесуточный привес 103 г. Тогда как в контрольной группе средне- суточный привес был на уровне 63 г, и за месяц прирост живой массы достиг всего 6,2% (таблица 3, рисунок).

Таблица 3 – Вес овец контрольной и опытной групп, кг

| Контрольная группа | Контрольная группа через 30 дней | Опытная группа (обычный рацион +БАД) | Опытная группа (обычный рацион +БАД) через 30 дней |
|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| 30,2±0.9 | 32,1±1.1 | 26,4±1,3 | 29,5±1,0* |
| *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. | | | |



Прирост живой массы овец контрольной и опытной групп в процентах

Производственная проверка результатов научно-исследовательской работы по использованию БАД с комбикормами для бройлеров и несушек проведена на базе ТОО Племенное хозяйство «Птичий дворик». Было сформировано 4 группы из бройлеров и несушек – по базовому варианту (контрольная) и новому (опытная) по 100 голов в каждой. Условия выращивания были одинаковыми для всех опытных групп и контрольной группы.

Важным параметром для диагностики заболеваний, связанных с нарушением метаболизма, является содержание общего белка в сыворотке крови. По результатам исследования отмечено, что его количество у птицы контрольной группы было достоверно меньше, чем в опытной группе. Эти изменения могут свидетельствовать об усилении белкового обмена при введении БАД.

Уровень углеводного обмена определяли по содержанию глюкозы в сыворотке крови. Это самый распространенный углевод в животном организме. Играет роль связующего звена между энергетической и пластической функциями организма. К моменту убоя у контрольных цыплят уровень глюкозы был также достоверно меньше, чем в опытной группе.

Наибольшее клиническое значение в оценке липидного обмена имеет определение холестерина и триглицеридов. В наших исследованиях уровень холестерина у цыплят, получавших БАД, не отклонялся от физиологической нормы.

При сравнении уровня триглицеридов мы видим более эффективный метаболизм и распределение жиров в тканях подопытных цыплят-бройлеров.

О состоянии печени – центральной лаборатории организма, можно судить по количеству в сыворотке крови АлАТ, АсАТ, билирубина и др. При оценке активности трансаминаз установили, что их значения во всех группах находились в пределах физиологической нормы.

Таблица 4 – Биохимические показатели плазмы крови бройлеров

| Показатель | Группа | | | |
|------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|
| | контрольная до опыта | контрольная после 20 дней | опытная до кормления | опытная после 20 дней |
| Общий белок, г/л | 21,62±1,27 | 23,7±2,51 | 20,8±1,24 | 26,2±1,56** |
| Альбумины, г/л | 9,12±0,9 | 11,6±1,2 | 8,17±0,61 | 14,5±0,8** |
| Глюкоза, ммоль/л | 9,41±0,82 | 10,78±1,1 | 10,56±0,31 | 15,78±1,02** |
| Холестерин, ммоль/л | 3,2±0,28 | 2,9±0,2 | 2,71±0,10 | 2,80±0,36 |
| Триглицериды, ммоль/л | 0,8±0,1 | 0,7±0,06 | 0,67±0,11 | 0,73±0,08 |
| Щелочная фосфатаза U/L | 1,46±0,17 | 1,38±0,09 | 1,29±0,13 | 1,35±0,16 |
| АлАТ, U/L | 0,68±0,08 | 0,71±0,05 | 0,60±0,07 | 0,65±0,05 |
| АсАТ, U/L | 1,17±0,09 | 1,20±0,1 | 1,21±0,12 | 1,19±0,14 |

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

В таблице 5 мы видим вес бройлеров контрольной и опытной групп. В контрольной группе среднесуточный привес составил 49 г, а в опытной группе 60,2 г в сутки.

Таблица 5 – Вес бройлеров контрольной и опытной групп, кг

| Контрольная группа, г | Контрольная группа через 20 дней, г | Опытная группа (обычный рацион +БАД), г | Опытная группа (обычный рацион +БАД) через 20 дней, г |
|-----------------------|-------------------------------------|---|---|
| 485±32,0 | 1465±67,0 | 478±42,0 | 1683±56,0* |

*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

Использование при кормлении кур-несушек цельного, неизмельченного зерна приводит к уменьшению питательной ценности кормов. Более выгодно использование зерна в дробленном виде. Комбикорм с крупными гранулами также не подходит, так как склеивается в большем количестве, чем при кормлении кур-несушек комбикормом в виде крупки.

В среднем, курам яйценоских пород требуется 115–120 граммов комбикорма в сутки на 1 голову.

При влажном типе кормления кур-несушек используются мешанки. Кормление влажным кормом осуществляется не менее 3–4 раз в день. Объем разового кормления рассчитывается таким образом, чтобы корм был склеван за 30–50 минут. Мешанку увлажняют водой, бульоном (мясным или рыбным), обратом, сывороткой. При использовании влажного типа кормления, утром курам дают треть суточной нормы зерна, днем кормят мешанками и дополнительными сочными кормами. На ночь птица получает цельное зерно. Необходимо, чтобы мешанка была рассыпчатой, так как липкая плохо склеивается и пачкает оперение. Кроме того, необходимо тщательно чистить кормушки, удаляя остатки кормов.

Суточная норма кормов при влажном типе кормления должна распределяться таким образом, чтобы корма, богатые углеводами (измельченное зерно и пшеничные отруби), составляли примерно 65–70 % от общей массы корма. Оставшиеся 30–35 % массы корма приходятся на протеиновые корма. К ним относятся премиксы, кормовые дрожжи, продукты животного происхождения, жмых, различные шроты, а также бобы, соя и горох. Для повышения яйценоскости при кормлении кур несушек влажными кормами, необходимо добавлять в состав мешанок витаминно-минеральные премиксы. Учитывая витаминный и минеральный состав нашей кормовой добавки, мы можем уверенно заменить часть суточной нормы витаминов, минералов и протеина.

Таблица 6 – Продуктивность кур-несушек при включении в рацион кормовой добавки

| Показатель | Группа | | | |
|---------------------------------------|------------------------|---------------|--------------------|---------------|
| | контрольная (50 голов) | | опытная (50 голов) | |
| Количество несушек, голов | до опыта | после 20 дней | до опыта | после 20 дней |
| Сохранность, % | 99,3 | 98,1 | 99,3 | 98,9 |
| Произведено яиц, шт | 940 | 951 | 933 | 982 |
| Яйценоскость на начальную несушку, шт | 18,8 | 19,2 | 18,6 | 19,6 |

Результаты научных исследований по содержанию и кормлению кормовой добавкой родительского стада показывают, что оптимальные параметры кормления и содержания кур-несушек оказали положительное влияние на их продуктивные качества.

Выводы. По предварительным данным БАД обеспечит восполнение дефицита белка и некоторых микроэлементов в кормлении сельскохозяйственных животных и максимально полного усвоения корма животными. Повысит продуктивность животных, снизит заболеваемость, улучшит усвоения фуража, предотвратит отравления, стабилизирует правильный белковый обмен, повысит сохранность поголовья, убойный выход и качество мяса.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Миколайчик И.Н., Морозова Л.А. Влияние витаминно-минерального премикса на основе бентонита на продуктивность и физиологическое состояние коров // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2008. – № 3. – С. 14-18.
- [2] Ташенов К.Т. Использование бентонита в качестве подкормки крупного рогатого скота в условиях промышленного комплекса (Методические рекомендации). – Алма-Ата, 1989. – 16 с.
- [3] Ташенов К.Т., Аюпова Р.С., Карынбаев Р.С., Макашев Е.К., Ким Т.Д., Иргалиева Л.А., Калекешов А.М. Релаксационное средство природных сорбентов, повышающее резистентность организма // Материалы 5 съезда физиологов Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск, 2002. – С. 46-49.
- [4] Фролова С.В., Любин Н.А. Влияние добавок к рациону цеолитсодержащих породы на гематологические показатели крови голистинских коров // В кн: Биохимические аспекты использования хелат. структур в животноводстве. – Ульяновск, 1997. – С. 55-59.
- [5] Исакова Д.Т., Ташенов К.Т., Калекешов А.М. Транспортная функция эритроцитов белка при воздействии на организм хлорида кадмия // Мат-лы междунар. научно-практ. конф., посвящ. 10-летию независимости Республики Казахстан «Современные проблемы образования и науки в начале века». – Караганды, 2001. – С. 76-77.
- [6] Aparicio, M, Chauveau DePrecigout, V et al. Nutrition and outcome on renal replacement therapy of patients with chronic renal disease treated by a supplemented very low protein diet // J Am Soc Nephrol. – 2000. – № 11. – P. 708-716.
- [7] Draibe, S. Nutritional requirement during long-term dialysis treatment and nutritional status of dialysis patients-what is the optimal amount of protein // J Am Kidney Dis. – 2005. – № 25(1). – P. 26-27.
- [8] Panse M. et al. Stimulation of free fatty acid receptor 1 reduces thioredoxin interacting protein and exhibits anti-apoptotic properties in insulin secreting cells, Diabetologia (2014) 57:[Suppl1]S172–S173.
- [9] Green R.M., Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests // Gastroenterology. – 2002. – Vol. 123. – P. 1367-1384.

REFERENCES

- [1] Mikolajczyk IN, LA Morozova Effect of vitamin and mineral premix, based on bentonite on the productivity and physiological condition of cows // Feeding of agricultural animals and fodder production. 2008. N 3. P. 14-18.
- [2] Tashenov K.T. The use of bentonite as feeding cattle in the conditions of the industrial complex (Guidelines). Alma-Ata, 1989. 16 p.
- [3] Tashenov K.T., Aiupova R.S., Karynbaev R.S., Makashev E.K., Kim T.D., Irgaliev L.A. Kalekeshov A.M. Relaxation means of natural sorbents, increases body resistance // Proceedings of the 5th Congress of Physiologists of Siberia and the Far East. Novosibirsk, 2002. P. 46-49.
- [4] Frolov S.V., Lubin N.A. Effect of dietary supplements of zeolite-containing rocks on gemotologicheskies blood counts golistinskih cow // In: Biochemical aspects of chelate. structures in animal husbandry. Ulyanovsk, 1997. P. 55-59.

[5] Isakova D.T., Tashenov K.T., Kalekeshov A.M. Transport function of the protein of red blood cells when exposed to the body chloride cadmium // Proceedings of the international scientific-practical conference dedicated to the 10th anniversary of Independence of the Republic of Kazakhstan "Modern problems of education and science in the beginning of the century". Karaganda, 2001. P. 76-77.

[6] Aparicio M, Chauveau DePrecigout, V et al. Nutrition and outcome on renal replacement therapy of patients with chronic renal disease treated by a supplemented very low protein diet // J Am Soc Nephrol. 2000. N 11. P. 708-716.

[7] Draibe S. Nutritional requirement during long-term dialysis treatment and nutritional status of dialysis patients-what is the optimal amount of protein // J Am Kidney Dis. 2005. N 25(1). P. 26-27.

[8] Panse M. et al. Stimulation of free fatty acid receptor 1 reduces thioredoxin interacting protein and exhibits anti-apoptotic properties in insulin secreting cells, Diabetologia (2014) 57: [Suppl1] S172-S173.

[9] Green R.M., Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests // Gastroenterology. 2002. Vol. 123. P. 1367-1384.

БЕНТОНИТ ПЕН ХЛОРЕЛЛА НЕГІЗІНДЕ ЖАСАЛҒАН АЗЫҚТЫҚ ҚОСПАНЫҢ АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ МАЛЫ МЕН ҚҰСТАР ОРГАНИЗМІНЕ ӘСЕРІ

**А. Тұрсынова, Н. С. Сүнненова, Н. Ережепова,
Н. Б. Сәрсенбаева, А. М. Қалекешов, Е. К. Макашев**

ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясы институты» ШЖҚ РМК,
Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: азықты қоспа, бройлер, мекиен тауықтар, қойлар.

Аннотация. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, жануарлардың бақылау тобының қан плазмасында альбумин көрсеткіші азғана өзгеріп, жалпы ақуыз мөлшері жоғарлады. Холестерин мен глюкоза көрсеткіштері бұл жағдайда өзгерген жоқ. Азыққа қоспа қосу кезіндегі қан плазмасы көрсеткіштерінің жағымды бағытқа өзгеруі қоспаның құндылығы мен қауіпсіздігін дәлелдейді. Зерттеу нәтижелері қой малын қора жағдайында ұстау кезінде, аурулардың алдын – алып, өнімділікті арттыруда аталған азықтық қоспаны берудің тиімділігін көрсетеді.

Мекиендерге азықтық қоспа беру нәтижесі олардың өнімділігін арттыруға айтарлықтай әсер етті. Азықтық қоспаның дәрумендік, минералдық құрамын ескерсек, жануарлар мен құстарға берілетін тәуліктік азықтың айтарлықтай бөлігін алмастыруға болады. Алдын-ала деректер бойынша биологиялық белсенді азықтық қоспа ауыл шаруашылық малы мен құстарының, ақуыз бен жекелеген микро-, макроэлементтерге деген тапшылығын жойып, азықтың толық сіңірілуіне жәрдем етеді. Жануарлар өнімділігін арттырып, ауру көрсеткішін төмендетеді. Уланудың алдын-алып, ақуыз алмасуын, ет сапасын жақсартады.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 34 – 39

**SUPEROVULATION INDUCTION AND STUDY
OF SHEEP'S EMBRYOS VIABILITY AFTER TREATMENT
OF VARIOUS CRYOPROTECTANTS AND
USING DIFFERENT COOLING RATES**

M. M. Toishibekov, Y. M. Toishibekov, G. A. Valiyeva

LLP "Institute of Experimental Biology named after F. M. Muhamedgalieva", Kazakhstan.

E-mail: inst-exp-biology@mail.ru

Keywords. Sheep, superovulation, embryo, cryopreservation.

Abstract. In our studies we were applied the following different doses of hormones: Folligon - 1200IE, FFA - 1500IE and Plyuset - 20 mg. On 3 experimental groups of sheep it was studied the effect of various drugs on the level of gonadotropin superovulation. Also embryos were cryopreserved using three cryoprotectors of glycerol, ethylene glycol and dimethyl sulfoxide.

УДК 636.082.12:573.6.086.83

**ҚОЙДЫҢ СУПЕРОВУЛЯЦИЯСЫН ИНДУКЦИЯЛАУ
ЖӘНЕ ЭМБРИОНДАРЫНЫҢ ӨМІРШЕҢДІГІНЕ
ӘРТҮРЛІ КРИОПРОТЕКТАНТТАР МЕН МҰЗДАТУДЫҢ
ӘРТҮРЛІ РЕЖИМДЕРІНІҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ**

M. M. Тойшибеков, E. M. Тойшибеков, Г. А. Валиева

«Ф. М. Мухамедғалиев атындағы эксперименттік биология институты» ЖШС, Қазақстан

Түйін сөздер: қойлар, суперовуляция, эмбриондар, криоконсервациялау.

Аннотация. Біздің зерттеуімізде келесі әртүрлі гормондық препараттың келесі мөлшері қолданылды: Folligon – 1200 ХБ, СЖК – 1500 ХБ и Плюсет – 20 мг. 3-тәжірибелік қойлардың топтарында суперовуляция деңгейіне әртүрлі гонадотропты препараттың әсері зерттелді. Сонымен қатар, үш түрлі глицерин, этиленгликоль, диметилсульфоксид криопротекторларын пайдалану арқылы эмбриондарды криоконсервацияладық.

Зерттеудің өзектілігі. Ауыл шаруашылық малдардың генетикалық қорын сақтау және оны пайдалану, адамзат үшін өзекті мәселе болып табылады, әрі күрделі ғылыми талқылауды қажет етеді. Дүние жүзіндегі дамыған мемлекеттерде үй жануарлары тұқымдарын сақтау мен рационалды пайдалану мақсатында жүргізіліп жүрген ғылыми ізденістер бұған дәлел болады. Малдардың генетикалық қорын қорғау және оларды рационалды пайдалану дүние жүзі деңгейінде өзекті мәселе болып табылатыны белгілі.

Соңғы кездерде ооциттер мен эмбриондардың ерте кезеңдерінде (стадия) криоконсервациялауға қызығушылық тану өсіп келеді және де тығыздалу мен бластуляция болатындықтан төмен температураға төзімділігі жоғары екендігі анықталды [1, 2]. Сиырдың эмбриондары мұздатудың жай әдістерінде онша төзімсіз және мұздатудың + 15⁰С дейін немесе төмен болғанда шыдам бере алмайды [3]; алайда оның орнына бластоциялар мұздатуға жақсы шыдам көрсетті [4].

Осындай дифференциалды сезімталдық қой эмбриондарының бірклеткалыдан хэтчирленген бластоцистасына дейін анықталды және өте кеш кезеңде криоконсервациялауға бағытталып үлкен мән берілді [5]. Даму кезеңдері жылқы эмбриондарының өміршеңдігінде шешуші рөл атқарады [6], 6 күні алынған эмбриондар 7 немесе 8 күні алынған эмбриондарға қарағанда жоғары өміршеңдік көрсететіні байқалған [7, 8].

Соңғы уақыттарда бұл үшін альтернативті жолдар қарастырылуда, мұнда криосақтаудың тиімділігін арттыруда клеткада нақты өзгерістер болады. Бұл жолдарды қолданғанда әртүрлі клеткалардың түрлері зерттеледі және бұлар жануарлар гермоплазмасының клеткаларын модификациялайтын жаңаша зерттеулерді қосады. Соңғы зерттеулерде, холестерин сперманың мембранасындағы фосфолипидке қосқанда олардың криорезистенттік көрсеткіштері жақсаратыны көрсетілген [9]. Әртүрлі температура жағдайында холестеринді қосқанда мембрананың ағуы (мембрананың липидтік биқабатының жабысқақтығы) азаятындығы, былайша холестеринді қосқанда мембрананың ағуы төменгі температураларда ұлғаятындығы анықталды [10]. Холестеринді қолданғанда мынандай өзгерістерге ұшырайды, төменгі температурада мембраналық фосфолипидтер бір-біріне әсер еткенде ол мембраналар жылдам болады. Сондай-ақ холестеринді қосқанда мембрана фазасына өткенде температура түседі немесе фазаға ауысу кезінде кейбір жағдайларда жойылады [11]. Purdy және Graham бұқа сперматозоидтарына холестерин қосқанда бұл фактының тиімді әсерін анықтады [12]. Horvath және Seidel [13] холестеринді сиыр ооциттеріне витрификация кезінде өміршеңдігін өсіру тиімділігін арттыру үшін қосты. Олар холестеринді клетка мембранасына дұрыс жағдайда ауыстыру аса бағалы фактор екендігін анықтады. Соңғы уақыттарда ғалымдар бұл мәселеге өте жоғары назар салды [14-16].

Қазақстанда жануарлар тұқымдарын гаметалары мен эмбриондарын криоконсервациялауда жаңа әдістерді әлі кең қолданыс таппай, ақсап келеді. Сондықтан да бұл зерттеулеріміздің ғылыми-техникалық деңгейі биік, қазіргі заманғы әлімдік ғылым деңгейіне сай деп толық айтуға болады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Аналық – донорлардың суперовуляциясын индукциялау. Тәжірибеміздегі малдар үш топқа бөлінеді: 1-ші топ (Folligon), 2-ші топ (ББҚСС) және 3-ші топ (Плюсет).

1-ші тәжірибиелік топта суперовуляцияны индукциялау үшін гормондармен өңдеуді келесі схема бойынша жүргіздік: эстральді циклдің 12-ші күні Folligon (Intervet International, Netherland) 1200 ХБ-те ектік; содан кейін 48 сағаттан соң 125 мг эстрофан (Чехия) енгізілді және ұрықтандыру күні 1000 ХБ адам хориондық гонадопропинін (аХГ Ресей) ектік.

2-ші тәжірибелік топта суперовуляцияны индукциялау үшін гормондармен өңдеуді келесі схема бойынша жүргіздік: эстральді циклдің 12-ші күні 1500–1700 ХБ ББҚСС егілді, содан кейін 48 сағаттан соң 125 мг эстрофан (Чехия) және де ұрықтандыру күні 1000 ХБ адам хориондық гонадопропинін (аХГ Ресей) ектік.

3-ші тәжірибелік топта суперовуляцияны индукциялау үшін гормондармен өңдеуді келесі схема бойынша жүргіздік: эстральді циклдің 10–12-ші күні күніне екі реттен тері астына 4 күн ішінде интервалы 12 сағат аралықта 2,5 мг Плюсет (Pluset, Laboratorios Calier S.A., Barcelona) егілді. Донорларға Плюсетті еккеннен кейін 3-ші күні бұлшық етіне 125 мкг эстрофан (Чехия) егілді. Аналық – донордың эструсына 1000 ХБ хориондық гонадопропинін (аХГ Ресей) егілді.

Эмбриондарды криоконсервациялау. Суперовуляцияны индукциялағаннан кейін осы морфологиялық көрсеткіштері бойынша бағаланудан өтіп криоконсервациялануға және ары қарай реципиенттерге трансплантациялануға жарамды деп танылған эмбриондар аналогтар принциптері бойынша үш топқа бөлінді:

1-ші тәжірибелік топтың эмбриондары (ГЛ) криопротектор ретінде 1,5 М глицерин ерітіндісін қолдану арқылы криоконсервацияланды.

2-ші тәжірибелік топтың эмбриондары (ДМСО) криопротектор ретінде 1,5 М ДМСО ерітіндісін қолдану арқылы криоконсервацияланды.

3-ші тәжірибелік топтың эмбриондары (ЭГ) криопротектор ретінде 1,5 М этиленгликоль ерітіндісін пайдаланып криоконсервацияланды.

Зерттеу нәтижелері

Суперовуляцияны индукциялау, эмбриондарды алу және морфологиялық бағалау. 3-тәжірибелік қойлардың топтарында суперовуляция деңгейіне әртүрлі гонадотропты препараттың әсері зерттелді. Біздің зерттеуімізде келесі әртүрлі гормональді препараттың келесі мөлшері қолданылды: Folligon – 1200 ХБ, СЖК – 1500 ХБ и Плюсет – 20 мг. Көрсетілген гормональді препараттармен өңделген донор-саулықтар жақсы суперовуляторлық реакцияны ББҚСС-на қарағанда Folligon және Плюсетпен өңделген жануарлар көрсеткені белгілі болды (1-кесте). Плюсетті енгізумен салыстырғанда – $6,75 \pm 1,03$ және ББҚСС екенге қарағанда – $3,5 \pm 0,92$, Folligon- мен өндегенде донорға шаққандағы орташа овуляция саны – $7,25 \pm 1,38$ құрады. Осылайша Folligon мен Плюсет қазақтың биязы жүнді қойларының суперовуляциясын индукциялағанда ең тиімді гонадотропты препараттар болып табылды, алайда ББҚСС қолдану құны бойынша ең қолжетімді болуы мүмкін.

1-кесте – Пайдаланған гонадотропты препараттың типіне байланысты қойлардың суперовуляция деңгейі

| Көрсеткіштер | Гонадотропты препарат | | | |
|---|-----------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | Folligon | ББҚСС | Плюсет | Барлығы |
| Өңделген жануарлар, n | 8 | 8 | 8 | 24 |
| Барлық овуляция саны, n | 58 | 28 | 54 | 140 |
| Донорға шаққандағы овуляция саны, n | $7,25 \pm 1,38$ | $3,5 \pm 0,92$ | $6,75 \pm 1,03$ | $5,8 \pm 2,01$ |
| Барлық алынған эмбриондар, n | 47 | 19 | 43 | 109 |
| Овуляция санынан эмбриондардың жуылып алынған пайызы, % | 81 | 67,8 | 79,6 | 77,8 |
| Донорға шаққандағы эмбрион саны, n | $5,87 \pm 1,72$ | $3,4 \pm 0,91$ | $5,37 \pm 0,91$ | $4,54 \pm 1,97$ |

Хирургиялық жолмен алуда 109 (77,8%) эмбрион жуылып алынды, донорға шаққанда орташа эмбрион $4,54 \pm 1,97$ құрады. Осылайша алынған ғылыми нәтижелер донор-саулықтардың аналық безінің ең тиімді суперовуляторлық реакциясын беретін Folligon және Плюсет гонадотропты препараттарын пайдалануың тиімді екенін анық көрсетіп отыр. Бұл жоғарғы көрсеткіштер суперовуляцияны индукциялауға қажет тікелей гормондардың әрекетін тежейтін бұл препараттар ББҚСС препаратында болатын тікелей нативті ақуыздар қоспаларынан ең жақсы тазартылуына байланысты. Алайда бұл препаратта нативті ақуыздардың болуына байланысты суперовуляторлық реакцияға ББҚСС әрекеті төмен екендігін жоққа шығаруға болмайтынын осы саладағы біздің бұрынғы зерттеулеріміз растайды. Буаз бие қан сарысуында болатын нативті ақуыздардан тазарту ең сапалы гонадотропты препараттарды өндірудегі ең маңызды міндеті. Суперовуляцияны гормондармен индукциялау және эмбриондарды хирургиялық жолмен алуда келесі нәтижелерге қол жеткіздік. 24 донор – саулықтардан 105 эмбрион алынды және морфологиялық көрсеткіштеріне байланысты бағаланды (2-кесте).

2-кесте – Гонадотропиндердің эмбриондардың сапасы мен санына әсері

| Көрсеткіштер | Барлық эмбриондар |
|---|-------------------|
| Жануарлар саны | 24 |
| Аналық клетка және эмбрион алынды Оның ішінде: | 105 |
| Ұрықтанбаған аналық клетка, n (%) | 6 (5,7 %) |
| Дегенерацияға ұшырағандар, n (%) | 7 (6,7 %) |
| Зиготалар, n (%) | 3 (2,9 %) |
| 2 клеткалылар, n (%) | 6 (5,7 %) |
| 4-8- клеткалылар, n (%) | 26 (24,8 %) |
| Морулалар және бластоцисталар, n (%) | 57 (54,2 %) |

Бұл эмбрион даму сатысына қарай жіктелді, морула және бластоциста даму сатысындағы 57 эмбрион жиналды. Кейінгі зерттеуімізде тек қана морула және бластоциста даму сатысындағы эмбриондарды ары қарай криоконсервациялау мен трансплантациялауға пайдаландық. Эмбриондар бастапқыдағы зерттеу схемасына сәйкес ГЛ, ЭГ және ДМСО үш топтарына бөлінді. Одан ары осы эмбриондар жоғары айтылған әдіс бойынша суыту температуралық режимдерін сақтай отырып, криопротектор ретінде глицерин, этиленгликоль, және диметилсульфоксид пайдалану арқылы криоконсервацияланды. Жоғарыда айтылғандай әдіспен сұйық азотта -196°C температурада мұздатып сақтаудан соң 12–15 күннен кейін еріттік. жасадық. Дамудың әр сатысындағы мұздатып – ерітілген эмбриондарды еріткеннен кейін оларды морфологиялық бағалаудан өткізіп келесі нәтижелер алдық (3-кесте).

3-кесте – Әртүрлі топтағы мұздатып-ерітілген эмбриондардың саны мен сапасын морфологиялық бағалау

| Көрсеткіштер | Тәжірибелік топтар | | |
|--|--------------------|----------|-----------|
| | ГЛ | ЭГ | ДМСО |
| Мұздатып-ерітілген эмбриондардың саны, n | 19 | 19 | 19 |
| Олардың ішінде: | | | |
| Трансплантациялауға жарамды, n (%) | 8 (42,1) | 12(63,1) | 10 (52,6) |
| Трансплантациялауға жарамсыз, n (%) | 11 (57,9) | 7 (36,8) | 9 (47,4) |

Мұздатылған эмбриондардың жалпы санынан 19 (ЭГ) және 19 (ДМСО), даму сатысындағы морула және бластоцисталарды ары қарай трансплантациялауға жарамды эмбриондардың ең көп саны 12 эмбрион ЭГ және 10 эмбрион ДМСО, 63,1% сәйкесінше 52,6% көрсеткені анықталды. Сонымен қатар, эмбриондарды морфологиялық бағалау кезінде ары қарай трансплантациялауға ГЛ тобында 19 эмбрионнан 8 эмбрион, яғни 42,1% болып ең төмен пайызды көрсетті. Мұздатып және еріткеннен соң эмбриондарды морфологиялық бағалаудан алынған нәтижелерден ары қарай трансплантациялауға криопротектор ретінде этиленгликольді қолдану кезінде көбірек эмбриондар алынғаны көрініп тұр. Бұл глицерин мен диметилсульфоксидтің молекулалық массасына қарағанда этиленгликольдің молекулалық массасы төменірек екенінен туындаған, өз кезегінде этиленгликоль эмбрионға ену кезіндегі сияқты еріту кезінде оны шығарғандада эмбрион мен бластомерлердің цитоплазмалық мембранасы арқылы үлкен өткізгіштікті тұғызады.

Трансплантация кезінде мұздатып – ерітілген эмбриондардың өміршеңдігін зерттеу. Транспланталатын эмбриондардың даму сатысына сәйкес жыныстық цикл сатылары теңестірілген трансплантациялауға жарамды эмбриондар реципиенттерге трансплантацияланды. Эмбриондарды бір талдап әр реципиентке трансплантацияладық. Келесі жыныстық циклде эструс фазасының бар екендігін анықтау негізінде трансплантацияланған эмбриондардың өміршеңдігін зерттеу жүргізілді. Осы зерттеулерді жүргізу нәтижесінде трансплантат-қозылар алынды (4-кесте). Егер топтар бойынша нәтижелерді қарастырсақ, онда әртүрлі режимдерде мұздатылған әртүрлі криопротекторлардың (ГЛ тобы) глицерин, (ЭГ тобы) этиленгликоль, және (ДМСО тобы) диметилсульфоксид мұздатып – ерітілген эмбриондардың өміршеңдігіне әсері бойынша, онда криопротектор ретінде глицерин қолданылған ГЛ тәжірибелік тобында реципиенттерде 2 қозы алынды және ол жалпы трансплантацияланған 8 мұздатылып-ерітілген эмбриондардың 25% құрады. Криопротектор ретінде этиленгликоль қолданылған ЭГ тәжірибелік тобында реципиенттерде 5 қозы алынды және ол жалпы трансплантацияланған 12 мұздатылып-ерітілген эмбриондардың 41,6% құрады, ал криопротектор ретінде диметилсульфоксид қолданылған ДМСО тәжірибелік тобында реципиенттерде 3 трансплантат – қозы алынды және ол жалпы трансплантацияланған 10 мұздатылып-ерітілген эмбриондардың 30% құрады.

4-кесте – Мұздатылып-ерітілген эмбриондардың өміршеңдігін зерттеу

| Эмбриондардың даму сатысы | Трансплантацияланған эмбриондардың жалпы саны, n | | | Трансплантат – қозылардың саны, n (%) | | |
|---------------------------|--|----|------|---------------------------------------|-----------|---------|
| | ГЛ | ЭГ | ДМСО | ГЛ | ЭГ | ДМСО |
| Морула мен бластоциста | 8 | 12 | 10 | 2 (25%) | 5 (41,6%) | 3 (30%) |

Сонымен зерттеуімізді қорыта келгенде, алынған ғылыми мәліметтеріміз бойынша теңдестірілген криоконсервациялауда (баяу мұздатуда) ең тиімді криопротекторлар этиленгликоль және диметилсульфоксид болып табылатындығы дәлелденді.

Сонымен қатар біздің ғылыми тәжірибелік нәтижелеріміз бойынша морула және бластоциста даму сатысындағы эмбриондарды криоконсервациялаған 12 мұздатылып -ерітілген (ЭГ тобында) морула мен бластоцистадан 41,6 % құрайтын 5 трансплантат – қозы алынып этиленгликоль криопротекторын қолдану ең тиімді екені анықталды.

Бұл қой эмбриондарының мұздатуда жиі зақымдалатын *zona pellucida* аймағы өте сезімтал болуына байланысты. Бұл зақымдалулар әртүрлі сипатқа ие сызаттан бастап жыртылуға дейін болады. Дамудың зигота, 2 жасушалы, 4-8 жасушалы эмбриондар сияқты ерте кезеңдері үшін *zona pellucida*-ның зақымдалуы тұтас (интактные) бластомердің зақымдалуына әкеліп соғады.

Алайда біздің зерттеулеріміз морула мен бластоцистаны криоконсервациялауда оң нәтижелерге ие болуы, егер морулалар мен бластоцисталарды криоконсервациялау кезінде олардың бластомерлері зақымдалмаса, онда *zona pellucida*-ның ішінара зақымдалуы реципиенттерге эмбриондарды трансплантациялау кезінде өміршеңдігінің нәтижелеріне онша әсерін тигізбейтіні бұл ары қарайғы хэтчинг процесіне байланысты екенін көрсетті.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Pesotskii V.V. The resistance of cattle embryos at different stages to low temperature // Ref. Zh. – 1987. – Vol. 2. – 408 p.
- [2] Willadsen S.M., Trounson A.M., Rowson L.E.A., Polge C., Newcomb R. Preservation of cow embryos in vitro // Proc. 8th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Cracow. – 1986. – Vol. 3. – P. 329-332.
- [3] Trounson A.O., Willadsen S.M., Rowson L.E.A., Newcomb R. The storage of cow eggs at room temperature and at low temperatures // J. Reprod. Fertil. – 1976. – Vol. 46. – P. 173-178.
- [4] Nelson C.F., Nelson L. Cryopreservation of 7- to 9-day bovine embryos // Theriogenology. – 1988. – Vol. 29. – 281 p.
- [5] Whitman S.S., Lineweaver J.A., Saacke R.G., Pearson R.E., Duman J. Effect of seeding temperature and hemolymph on freeze-thaw survival of bovine embryos // J. Anim. Sci. – 1984. – Vol. 59, suppl. 1. – 457 p.
- [6] Wierbowski S., Wierzchos E., Smorag Z., Kareta W., Gajada B., Krupinski J., Zukowski K. The practical application of embryo freezing and transfer for preservation of endangered Polish red cattle and longwool primitive sheep // Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Urbana. – 1984. – Vol. 2. – 252 p.
- [7] Takeda T., Elsdon R.P., Squires E.L. In vitro and in vivo development of frozen thawed equine embryos // Proc. 10th Intl. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Urbana. – 1984. – Vol. 2. – 246 p.
- [8] Yamamoto Y., Oguri N., Tsutsumi Y., Hachimohe Y. Experiments in the freezing and storage of equine embryos // J. Reprod. Fert. – 1982. – Vol. 32, suppl. 1. – 399 p.
- [9] He L., Bailey J.L., Buhr M.M. Incorporating lipids into boar sperm decreases chilling sensitivity but not capacitation potential // Biol. Reprod. – 2001. – Vol. 64. – P. 69-79.
- [10] Rottem S., Yashouv J., Ne'eman A., Razin A. Cholesterol in mycoplasma membranes. Composition, ultrastructure and biological properties of membranes from mycoplasma mycoides var. capri cells adapted to grow with low cholesterol concentrations // Biochim. Biophys. Acta. – 1973. – Vol. 323. – P. 495-508.
- [11] Purdy P.H., Graham J.K. Effect of cholesterol loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm // Cryobiology. – 2004. – Vol. 48. – P. 36-45.
- [12] Horvath G., Seidel G.E. Jr. Vitrification of bovine oocytes in chemically defined media after treatment with cholesterol-loaded methyl- β -cyclodextrin // Theriogenology. – 2006. – Vol. 66(4). – P. 1026-1033.
- [13] Gabriella H. The use of chemically defined media supplemented with fetuin or cholesterol loaded methyl- β -cyclodextrin for vitrification of bovine oocytes // Theses of PhD dissertation. – 2008. – 21 p.
- [14] Moce E., Blanch E., Toma C. and Graham J.K. Use of Cholesterol in Sperm Cryopreservation: Present Moment and Perspectives to Future // Reprod. Dom. Anim. – 2010. – Vol. 45(2). – P. 57-66.
- [15] Jennifer R. Prentice and Muhammad Anzar Cryopreservation of Mammalian Oocyte for Conservation of Animal Genetics // Veterinary Medicine International. – 2011. – Article ID 146405. – 11 p.
- [16] Moraes E.A., Graham J.K., Torres C.A.A., Meyers M., Spizziri B. Delivering cholesterol or cholestanol to bull sperm membranes improves cryosurvival // Anim. Reprod. Sci. – 2010. – Vol. 118. – P. 148-154.

REFERENCES

- [1] Pesotskii, V.V. The resistance of cattle embryos at different stages to low temperature // Ref. Zh. 1987. Vol. 2. 408 p.
- [2] Willadsen S.M., Trounson A.M., Rowson L.E.A., Polge C., Newcomb R. Preservation of cow embryos in vitro // Proc. 8th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Cracow. 1986. Vol. 3. P. 329-332.
- [3] Trounson A.O., Willadsen S.M., Rowson L.E.A., Newcomb R. The storage of cow eggs at room temperature and at low temperatures // J. Reprod. Fertil. 1976. Vol. 46. P. 173-178.
- [4] Nelson C.F., Nelson L. Cryopreservation of 7- to 9-day bovine embryos // Theriogenology. 1988. Vol. 29. 281 p.

- [5] Whitman S.S., Lineweaver J.A., Saacke R.G., Pearson R.E., Duman J. Effect of seeding temperature and hemolymph on freeze-thaw survival of bovine embryos // J. Anim. Sci. 1984. Vol. 59, suppl. 1. 457 p.
- [6] Wierbowski S., Wierzchos E., Smorag Z., Karetta W., Gajada B., Krupinski J., Zukowski K. The practical application of embryo freezing and transfer for preservation of endangered Polish red cattle and longwool primitive sheep // Proc. 10th Intl. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Urbana. 1984. Vol. 2. 252 p.
- [7] Takeda T., Elsdon R.P., Squires E.L. In vitro and in vivo development of frozen thawed equine embryos // Proc. 10th Intl. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Urbana. 1984. Vol. 2. 246 p.
- [8] Yamamoto Y., Oguri N., Tsutsumi Y., Hachimohe Y. Experiments in the freezing and storage of equine embryos // J. Reprod. Fert. 1982. Vol. 32, suppl. 1. 399 p.
- [9] He L., Bailey J.L., Buhr M.M. Incorporating lipids into boar sperm decreases chilling sensitivity but not capacitation potential // Biol. Reprod. 2001. Vol. 64. P. 69-79.
- [10] Rottem S., Yashouv J., Ne'eman A., Razin A. Cholesterol in mycoplasma membranes. Composition, ultrastructure and biological properties of membranes from mycoplasma mycoides var. capri cells adapted to grow with low cholesterol concentrations // Biochim. Biophys. Acta. 1973. Vol. 323. P. 495-508.
- [11] Purdy P.H., Graham J.K. Effect of cholesterol loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm // Cryobiology. 2004. Vol. 48. P. 36-45.
- [12] Horvath G., Seidel G.E. Jr. Vitrification of bovine oocytes in chemically defined media after treatment with cholesterol-loaded methyl- β -cyclodextrin // Theriogenology. 2006. Vol. 66(4). P.1.026-1033.
- [13] Gabriella H. The use of chemically defined media supplemented with fetuin or cholesterol loaded methyl- β -cyclodextrin for vitrification of bovine oocytes // Theses of PhD dissertation. 2008. 21 p.
- [14] Moce E., Blanch E., Toma C., Graham J.K. Use of Cholesterol in Sperm Cryopreservation: Present Moment and Perspectives to Future // Reprod. Dom. Anim. 2010. Vol. 45(2). P. 57-66.
- [15] Jennifer R. Prentice and Muhammad Anzar Cryopreservation of Mammalian Oocyte for Conservation of Animal Genetics // Veterinary Medicine International. 2011. Article ID 146405. 11 p.
- [16] Moraes E.A., Graham J.K., Torres C.A.A., Meyers M., Spizziri B. Delivering cholesterol or cholestanol to bull sperm membranes improves cryosurvival // Anim. Reprod. Sci. 2010. Vol. 118. P. 148-154.

**ИНДУКЦИЯ СУПЕРОВУЛЯЦИИ И ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ
РАЗЛИЧНЫХ КРИОПРОТЕКТАНТОВ И РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ЗАМОРАЖИВАНИЯ
НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЭМБРИОНОВ ОВЕЦ**

М. М. Тойшибеков, Е. М. Тойшибеков, Г. А. Валиева

«Институт экспериментальной биологии им. Ф. М. Мухамедгалиева» ТОО, Казахстан

Ключевые слова: овцы, суперовуляция, эмбрионы, криоконсервация.

Аннотация. В наших исследованиях были применены следующие дозы различных гормональных препаратов: Folligon - 1200ИЕ, СЖК – 1500ИЕ и Плюсет – 20 мг. На 3-х подопытных группах овец было изучено влияние различных гонадотропных препаратов на уровень суперовуляции. А также эмбрионы были криоконсервированы с использованием трех крипротекторов глицерина, этиленгликоля и диметилсульфоксида.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 40 – 46

**THE RADIOPROTECTIVE AND REACTIVATING ACTIVITY
OF THE PROBIOTIC USED FOR PREVENTION AND TREATMENT
OF THE MIXED INTESTINAL INFECTIONS
AT FARM ANIMALS AND BIRDS**

**N. N. Gavrilova¹, I. A. Ratnikova¹, K. Bayakyshova¹, Z. Zh. Turlybayeva¹,
N. M. Utegenova¹, L. A. Kosheleva¹, O. G. Chugai²**

¹RGE «Institute of Microbiology and Virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,

²Republican clinical hospital of disabled people of the Great Patriotic War, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: iratnikova@list.ru

Keywords: probiotic, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, radioprotectors, reactivating activity.

Abstract. It is established that the tested probiotic and included in its composition of lactic and propionic acid bacteria have the protective and reactivating effect at irradiation of cells of *E. coli* with UV rays. The smallest radioprotective activity is revealed at culture of *L. plantarum*-14d at its addition in *E. coli* suspension before radiation in quantity of 2 and 5% (index of division 200-320, respectively). The greatest radioprotective activity possesses the culture of *L. plantarum*-2v/A-6 in concentration of 5% (index of division 56000). The high radioprotective activity is established also in probiotic association which at a concentration of 2 and 5% allowed to keep after radiation the number of viable *E. coli* cells in the range 2,1-2,3x10⁹ CFU/ml (index of division 46000). The dependence of radioprotective activity of probiotic bacteria on the used nutrient medium is studied. The greatest radioprotective effect is established at cultivation of all cultures and association on nutrient mediums of MRS and combined. The single cultures and association at cultivation in milk possessed the reactivating activity, smaller by 4-5 times, in comparison with other nutrient mediums. The high reactivating effect on the irradiated cells of *E. coli* is revealed at culture of *L. plantarum*-2v/A-6 (index of division 20000). The probiotic has the moderate reactivating activity (index of division 620).

УДК 579:864.1:57.008.6:577.115

**ПРОТИВОЛУЧЕВАЯ И РЕАКТИВИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ
ПРОБИОТИКА, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
И ЛЕЧЕНИЯ СМЕШАННЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ
У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ**

**И. А. Ратникова¹, Н. Н. Гаврилова¹, К. Баяқышова¹, З. Ж. Турлыбаева¹,
Н. М. Утегенова¹, Л. А. Кошелева¹, О. Г. Чугай²**

¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

²Республиканский клинический госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: пробиотик, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, радиопротекторы, реактивирующая активность.

Аннотация. Установлено, что испытанный пробиотик и входящие в его состав молочнокислые и пропионовокислые бактерии обладают защитным и реактивирующим эффектом при облучении клеток *E. coli* УФ-лучами. Наименьшая противолучевая активность выявлена у культуры *L. plantarum*-14д при добавлении ее в суспензию *E. coli* перед облучением в количестве 2 и 5% (индекс деления 200-320, соответственно). Наибольшей радиопротекторной активностью обладает культура *L. plantarum*-2v/A-6 в концентрации 5%

(индекс деления 56000). Высокая противолучевая активность установлена также у пробиотической ассоциации, использование которой в концентрации 2 и 5% позволило сохранить после облучения количество жизнеспособных клеток *E. coli* в пределах $2,1-2,3 \times 10^9$ КОЕ/мл (индекс деления 46000). Изучена зависимость противолучевой активности пробиотических бактерий от используемой питательной среды. Наибольший противолучевой эффект установлен при выращивании всех культур и ассоциации на питательных средах MRS и комбинированной. Одиночные культуры и ассоциация, выращенные в молоке, обладали меньшей в 4–5 раз реактивирующей активностью по сравнению с другими средами. Высокий реактивирующий эффект на облученные клетки бактерий выявлен у культуры *L. plantarum*-2в/А-6 (индекс деления 20000). Пробиотик обладает умеренной реактивирующей активностью (индекс деления 620).

В связи с отрицательным воздействием радиации на организм человека и животных актуальным является поиск эффективных радиозащитных препаратов.

В настоящее время наиболее изученными и высокоэффективными медицинскими средствами противорадиационной защиты являются радиопротекторы химической природы [1-3]. Однако их применение ограничено сроками использования (исключительно до радиационного воздействия) и высокой токсичностью в оптимальных радиозащитных дозах. Неэффективность применения препарата после облучения в качестве лечебного средства характерна для значительного большинства радиопротекторов.

В связи с опасностями радиозоологического кризиса особое внимание в последнее десятилетие уделяется поиску путей защиты от действия хронического облучения ионизирующими излучениями низкой интенсивности в природных условиях. Традиционные радиопротекторы с их кратковременным действием и высокой токсичностью оказались непригодными при хроническом облучении. Как показали исследования, проводившиеся в различных странах, для этой цели наиболее целесообразно использовать биологически активные вещества природного происхождения. Благодаря отсутствию или низкой токсичности и хорошей переносимости они могут быть использованы в качестве пищевых добавок. Природные вещества активизируют защитные ресурсы организма, воздействуя в основном на нейрогуморальную и иммунно-гематопэтическую регуляторные системы. В результате повышается общая неспецифическая резистентность организма, стимулируется эндогенный фон радиорезистентности - сложный комплекс эндогенных биологически активных соединений: аминов, тиолов и других антиокислителей, осуществляющих защитные функции и подавляющих накопление губительного для живых клеток избытка продуктов лучевого перекисного окисления. К таким защитным природным веществам относятся адаптогены: фито- и зоопрепараты народной медицины (алкалоиды, полисахариды), смеси биологически активных веществ, зооэффекторы, трэфоны (стимуляторы кроветворения), эстрогены (соединения пролонгированного системного действия), иммуномодуляторы, мобилизующие общую устойчивость организма к заболеваниям, в том числе вызванным лучевым поражением [4, 5].

В качестве наиболее перспективных фармакологических средств для ранней терапии лучевой патологии рассматриваются препараты цитокинов - полипептидов, регулирующих рост, дифференцировку, функциональную активность клеток и их радиорезистентность [6-9].

К числу наиболее перспективных противолучевых средств из группы цитокинов относят рекомбинантный интерлейкин-1в, в экспериментальных исследованиях показавший высокую эффективность как для профилактики, так и для ранней терапии лучевых поражений. Экспериментально обоснован новый подход к повышению эффективности медицинской противорадиационной защиты посредством последовательного применения фармакологических средств радиопротектора - препарата Б-190 за 15 мин до облучения и рекомбинантного интерлейкина-1 в (беталейкина) через 15 мин после радиационного воздействия [10, 11].

Одним из перспективных направлений поиска новых средств для экстренной профилактики лучевой болезни является использование пробиотических бактерий, обладающих широким спектром действия, включая цитокининдуцирующую, антирадикальную и антиинфекционную защиту, гемо- и иммунорегулирующую активность [12].

По литературным данным, некоторые пробиотические бактерии (бифидол, биоспорин), а также убитые культуры лактобацилл, введенные однократно подкожно за несколько часов и суток до облучения, повышали выживаемость мышей на 60-80% [13-17]. При этом механизм радиозащитного эффекта пробиотиков авторы связывают с индукцией ими цитокинов, осуществляющих регуляцию

гемо-и иммунопоэза, однако эти исследования проведены только на лабораторных животных и при поражениях организма в дозах ЛД70/30.

Предложено однократное подкожное введение нативного или облученного вариантов бифидумбактерина в составе среды выращивания в дозе $1,43 \cdot 10^6$ КОЕ/кг за 1-11 сут. до облучения, предохраняющее 70-80% летально облученных лабораторных (белых мышей, белых крыс, морских свинок, кроликов) и сельскохозяйственных животных (овец). Радиозащитный эффект биопрепарата проявляется в более легком течении острой лучевой болезни, меньшей выраженности панцитопении и миелосупрессии, предотвращения дисбаланса иммунорегуляторного индекса, сохранении лизоцимной и бактерицидной активности, снижении количества условно-патогенных энтеробактерий в кишечнике [18].

В связи с имеющимися положительными результатами по использованию пробиотических бактерий для профилактики лучевой болезни целью наших исследований было изучение противолучевой активности пробиотика, предназначенного для профилактики и лечения смешанных кишечных инфекций у сельскохозяйственных животных и птиц [19].

Методы исследования В работе использовали штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* - 2в/А-6 и 14д, *Lactobacillus brevis* Б-3/А-26, пропионовокислых бактерий (ПКБ) *Propionibacterium shermanii* 2/10 и ассоциация из этих штаммов в равных соотношениях, составляющих основу пробиотика против смешанных кишечных инфекций.

Для культивирования молочнокислых бактерий использовали питательную среду MRS, пропионовокислых бактерий – комбинированную на основе кукурузного экстракта и MRS с кобальтом [20].

Для определения противолучевой активности молочнокислые бактерии добавляли в суспензию тест-культуры *E. coli* перед облучением в количестве 0,5; 2,0 и 5,0 %. Затем 4,5 – 5 мл суспензии *E. coli*, наливали в плоские стеклянные чашки Петри диаметром 10 см и облучали УФ-лучами, источником которых служила установка из двух ламп БУФ-15 (мощностью 30 Вт), смонтированных параллельно. Лампу устанавливали на расстоянии 25 см над облучаемой чашкой, что составляло дозу 30 эрг/мм за 1 сек. Облучение проводили в течение 30 сек. Перед посевом на плотную среду в чашки со средой Эндо суспензию разводили так, чтобы в чашках выросло 50-300 колоний. Для каждой точки проводили облучение трех независимых суспензий и из каждой суспензии делали высеv в три чашки. Среднее значение рассчитывали при подсчете числа колоний в девяти чашках. Затем определяли индекс деления, который выражают как число клеток, образующих колонии в присутствии протектора, к числу клеток, образующих колонии без протектора.

Обсуждение результатов Установлено, что наименьшей противолучевой активностью обладает культура *L. plantarum*-14д при добавлении ее в суспензию *E. coli* перед облучением в количестве 2% и 5%. При этом после облучения количество жизнеспособных клеток *E. coli* составило $1,0 \cdot 10^7$ - $1,6 \cdot 10^7$ КОЕ/мл, индекс деления 200-320, соответственно. В контрольном варианте без протекторов количество клеток *E. coli* после облучения снизилось с $2,9 \cdot 10^9$ до $5,0 \cdot 10^4$ (таблица 1).

Таблица 1 – Противолучевая активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий

| Штаммы бактерий, используемые в качестве протектора | Титры <i>E. coli</i> , КОЕ/мл, после облучения в жидкой среде с различным содержанием культуры пробиотических бактерий | | Индекс деления <i>E. coli</i> после облучения в жидкой среде с различным содержанием пробиотических бактерий | |
|---|--|------------------|--|-------|
| | 2% | 5% | 2% | 5% |
| 2в/А-6 | $1,2 \cdot 10^8$ | $2,8 \cdot 10^9$ | 2400 | 56000 |
| 14д | $1,0 \cdot 10^7$ | $1,6 \cdot 10^7$ | 200 | 320 |
| Б-3/А-26 | $7,0 \cdot 10^7$ | $8,0 \cdot 10^7$ | 1400 | 1600 |
| ПКБ 2/10 | $5,1 \cdot 10^7$ | $3,0 \cdot 10^8$ | 1020 | 6000 |
| Ассоциация | $2,1 \cdot 10^9$ | $2,3 \cdot 10^9$ | 42000 | 46000 |
| Контроль <i>E. coli</i> исходный | $2,9 \cdot 10^9$ | | | |
| Контроль <i>E. coli</i> после облучения | $5,0 \cdot 10^4$ | | | |

Культура *L. brevis* Б-3/А-26, использованная в качестве протектора в концентрации 2 и 5 %, повысила число выживших клеток *E. coli* после облучения до $7,0-8,0 \times 10^7$ КОЕ/мл, индекс деления до 1440-1600. Более высокой радиопротекторной активностью обладали пропионовокислые бактерии *P. shermanii*-2/10. При использовании их в качестве протектора в количестве 5% число выживших клеток *E. coli* составило $3,0 \times 10^8$ КОЕ/мл, индекс деления – 6000. Добавление в суспензию бактерий *E. coli* перед облучением культуры *L. plantarum* 2в/А-6 в концентрации 5,0%, оказывало самый высокий противолучевой эффект. При этом количество клеток *E. coli* после облучения не отличалось от исходного уровня ($2,8 \times 10^9$ КОЕ/мл).

Высокая противолучевая активность установлена также у пробиотической ассоциации, использование которой в концентрации 2 и 5% позволило сохранить после облучения жизнеспособными клетки *E. coli* в пределах $2,1-2,3 \times 10^9$ КОЕ/мл.

Изучена зависимость противолучевой активности пробиотических бактерий от используемой питательной среды: комбинированной, MRS и молочной. Существенного различия в количестве бактериальных клеток при выращивании культур на средах MRS и комбинированной не наблюдалось. Содержание бактерий при этом составляло в среднем $8,53 \pm 0,20 \times 10^9$ КОЕ/мл. В обезжиренном молоке количество бактериальных клеток достигало $6,15 \pm 0,75 \times 10^8$ КОЕ/мл. Результаты по противолучевой активности штаммов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Противолучевая активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий, выращенных на различных питательных средах

| Штаммы молочнокислых и пропионовокислых бактерий | Индекс деления <i>E. coli</i> после облучения в жидкой среде, содержащей пробиотические бактерии, выращенные на различных питательных средах | | |
|--|--|-----------------|--------|
| | MRS | комбинированная | молоко |
| 2в/А-6 | 48000 | 50000 | 10000 |
| 14д | 250 | 300 | 60 |
| Б-3 А-26 | 1200 | 1400 | 300 |
| ПКБ 2/10 | 4000 | 4200 | 1000 |
| Ассоциация | 40000 | 42000 | 9000 |

Наибольший противолучевой эффект установлен на средах MRS и комбинированной у всех культур и ассоциации. Одиночные культуры и ассоциация при выращивании в молоке обладали меньшей в 4-5 раз реактивирующей активностью по сравнению с другими средами.

Для определения реактивирующего эффекта в суспензию облученных клеток *E. coli* добавляли 2 и 5% нативных культур, выдерживали 30 минут, затем определяли количество жизнеспособных клеток. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Реактивирующее влияние молочнокислых и пропионовокислых бактерий на облученные клетки *E. coli*

| Штаммы бактерий | Титры <i>E. coli</i> , КОЕ/мл, после облучения и реактивации с различным содержанием культуры пробиотических бактерий | | Индекс деления <i>E. coli</i> после облучения и реактивации с различным содержанием пробиотических бактерий | |
|---|---|-------------------|---|-------|
| | 2% | 5% | 2% | 5% |
| 2в/А-6 | $1,3 \times 10^8$ | $2,5 \times 10^8$ | 10000 | 20000 |
| 14д | $2,9 \times 10^5$ | $3,5 \times 10^5$ | 29 | 35 |
| Б-3 А-26 | $4,4 \times 10^5$ | $3,7 \times 10^6$ | 44 | 370 |
| ПКБ 2/10 | $1,7 \times 10^6$ | $5,0 \times 10^6$ | 170 | 500 |
| Ассоциация | $6,0 \times 10^6$ | $6,2 \times 10^6$ | 600 | 620 |
| Контроль <i>E. coli</i> исходный | $5,7 \times 10^8$ | | | |
| Контроль <i>E. coli</i> после облучения | $1,0 \times 10^4$ | | | |

Установлено, что культура *L. plantarum*-14д в концентрации 2-5% оказывает слабый восстанавливающий эффект на облученные клетки *E. coli* (индекс деления 29 и 35, соответственно). Штамм Б-3/А-26 увеличивает число жизнеспособных клеток до $4,4 \times 10^5$ при 2% концентрации и до $3,7 \times 10^6$ при 5% концентрации по сравнению с $1,0 \times 10^4$ в контроле.

Умеренным восстанавливающим эффектом обладают *P. shermanii*-2/10 и ассоциация бактерий. Под влиянием культуры *P. shermanii*-2/10 отмечено повышение количества клеток *E. coli* после облучения и реактивации с $1,0 \times 10^4$ до $1,7 \times 10^6$ - $5,0 \times 10^6$ КОЕ/мл в зависимости от концентрации бактерий. Ассоциация восстанавливает жизнеспособность облученной культуры *E. coli* при 2 и 5%-ной концентрации до $6,0$ - $6,2 \times 10^6$ КОЕ/г (индекс деления 600-620).

Высоким восстанавливающим эффектом обладает культура *L. plantarum*-2в/А-6, повышающая количество жизнеспособных клеток *E. coli* после реактивации до $1,3$ - $2,5 \times 10^8$ КОЕ/мл при исходном содержании клеток до облучения $5,7 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Выводы. Таким образом, установлено, что испытанный пробиотик и входящие в его состав молочнокислые и пропионовокислые бактерии обладают защитным и реактивирующим эффектом при облучении клеток *E. coli* УФ-лучами.

Наибольшей радиопротекторной активностью обладают культура *L. plantarum*-2в/А-6 и пробиотик.

Высокий реактивирующий эффект на облученные клетки бактерий выявлен также у культуры *L. plantarum*-2в/А-6. Пробиотик обладает умеренной реактивирующей активностью. Противолучевая активность пробиотических бактерий зависит от состава питательной среды.

Источник финансирования исследований. Комитет науки Министерство образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Гончаренко Е.Н., Кудряшов Ю.Б. Химическая защита от лучевого поражения. – М.: Изд-во МГУ, 1985. – 147 с.
- [2] Seed T. Radiation protectants: current status and future prospects // Health Physics. – 2005. – Vol. 89, N 5. – P. 531-545.
- [3] Куна П. Химическая радиозащита. – М.: Медицина, 1989. – 193 с.
- [4] Кудряшов Ю.Б. Химическая защита от лучевого поражения // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – № 6. – С. 21-26.
- [5] Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Назаров В.Б., Власенко Т.Н. Современные возможности медикаментозной профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Военно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 332, № 2. – С. 13-17.
- [6] Чигарева Н.Г., Морозова И.Н., Легеза В.И., Симбирцев А.С. Экспериментальное исследование лечебной эффективности пероральной формы интерлейкина-1 β при острой лучевой болезни // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – 91 с.
- [7] Легеза В.И., Чигарева Н.Г., Галеев И.Ш., Вельский С.Н. Противолучевые свойства цитокинов // Медицинские аспекты радиационной и химической безопасности: Материалы Рос. науч. конф. – СПб., 2001. – С. 440-443.
- [8] Иванов А.А., Кузнецов В.П., Уланова А.М. и др. Противолучевая эффективность лейкинферона у собак и морских свинок // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2004. – Т. 44, № 4. – С. 403-411.
- [9] Бутомо Н.В. О возможном участии цитокинов в восстановлении радиорезистентности после облучения // Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты: Сб. тр. Рос. науч. конф. – СПб., 2004. – С. 299-300.
- [10] Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Власенко Т.Н. и др. Влияние последовательного применения препарата Б-190 и интерлейкина-1 β на выживаемость и костномозговое кроветворение облученных мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2010. – Т. 50, № 4. – С. 475-480.
- [11] Зацепин В.В., Власенко Т.Н., Назаров В.Б., Гребенюк А.Н. Экспериментальное обоснование комплексного применения препарата Б-190 и интерлейкина-1β при остром облучении // Военно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 331, № 8. – С. 48-49.
- [12] Зинченко Е.В., Панин А.Н. Иммунобиотики в ветеринарной практике. – Пушино ОНТИ ПНЦ РАН. – 2000. – 163 с.
- [13] Бижанов Б.Р. Состояние Т- и В-системы иммунитета при острой лучевой болезни овец: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – Обнинск, 1991. – 20 с.
- [14] Емченко Н.В., Мальцев В.Н., Гуценко К.К. Влияние бактериальных препаратов на выживаемость облученных животных // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1994. – Т. 34, вып. 4-5. – С. 578-581.
- [15] Степанов А.В., Литусов Н.В., Поберий И.Н. Исследование радиоспецифических свойств препарата «Биоспорин» // Сборник материалов научно-практ. конф. – Екатеринбург, 1997. – С. 42-45.
- [16] Жолус Р.Б. Исследование радиомодифицирующих свойств препарата «биоспорин» при различных схемах его применения // Мат-лы 3 съезда по рад. иссл. – М., 1997. – № 2. – С. 246-247.
- [17] Будагов Р.С., Ульянова Л.П., Поспелова В.В. Биопрепарат на основе *Lactobacillus acidophilus* новое средство раннего лечения комбинированных радиационных – термических поражений // Радиобиология. – 1997. – Т. 37, № 5. – 743 с.

- [18] Хафизов А.Ш. Изыскание радиозащитных средств из класса веществ микробного происхождения: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – Казань, 2007. – 19 с.
- [19] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A. Test of therapeutic and preventive effectiveness of probiotic // Abstr. of International Conference «Probiotics and Prebiotics» – Koshica, Slavonia, 2011. – 87 p.
- [20] Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н. Подбор питательной среды для культивирования молочнокислых и пропионовокислых бактерий // Биотехнология. Теория и практика. – 1999. – № 1-2 (9-11). – С. 87-91.

REFERENCES

- [1] Goncharenko E.N., Kudrjashov Ju.B. Himicheskaja zashhita ot luchevego porazhenija. M.: Izd-vo MGU, 1985. 147 s.
- [2] Seed T. Radiation protectants: current status and future prospects // Health Physics. 2005. Vol. 89, № 5. P. 531-545.
- [3] Kuna P. Himicheskaja radiozashhita. M.: Medicina, 1989. 193 s.
- [4] Kudrjashov Ju.B. Himicheskaja zashhita ot luchevego porazhenija // Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal. 2000. № 6. S. 21-26.
- [5] Grebenjuk A.N., Zacepin V.V., Nazarov V.B., Vlasenko T.N. Sovremennye vozmozhnosti medikamentoznoj profilaktiki i rannej terapii radiacionnyh porazhenij // Voenno-medicinskij zhurnal. 2011. T. 332, N 2. S. 13-17.
- [6] Chigareva N.G., Morozova I.N., Legeza V.I., Simbircev A.C. Jeksperimental'noe issledovanie lechebnoj jeffektivnosti peroral'noj formy interlejkina-1 β pri ostroj luchevoj bolezni // Citokiny i vospalenie. 2002. T. 1, № 2. S. 91.
- [7] Legeza V.I., Chigareva N.G., Galeev I.Sh., Vel'skij S.N. Protivolucheveye svojstva citokinov // Medicinskie aspekty radiacionnoj i himicheskoy bezopasnosti: Materialy Ros. nauch. konf. SPb., 2001. S. 440-443.
- [8] Ivanov A.A., Kuznecov V.P., Ulanova A.M. i dr. Protivoluchevej jeffektivnost' lejkinferona u sobak i morskih svinok // Radiac. biologija. Radiojekoologija. 2004. T. 44, № 4. S. 403-411.
- [9] Butomo N.V. O vozmozhnom uchastii citokinov v vosstanovlenii radiorezistentnosti posle obluchenija // Mediko-biologicheskie problemy protivoluchevoj i protivohimicheskoy zashhity: Sb. tr. Ros. nauch. konf. SPb., 2004. S. 299-300.
- [10] Grebenjuk A.N., Zacepin V.V., Vlasenko T.N. i dr. Vlijanie posledovatel'nogo primeneniya preparata B-190 i interlejkina-1 β na vyzhivaemost' i kostnomozgovoe krovetvorenje obluchennyh myshej // Radiacionnaja biologija. Radiojekoologija. 2010. T. 50, № 4. S. 475-480.
- [11] Zacepin V.V., Vlasenko T.N., Nazarov V.B., Grebenjuk A.N. Jeksperimental'noe obosnovanie kompleksnogo primeneniya preparata B-190 i interlejkina-1r pri ostrom obluchenii // Voenno-medicinskij zhurnal. 2010. T. 331, № 8. S. 48-49.
- [12] Zinchenko E.V., Panin A.N. Immunobiotiki v veterinarnoj praktike. Pushhino ONTI PNC RAN. 2000. 163 s.
- [13] Bizhanov B.R. Sostojanie T- i V-sistemy immuniteta pri ostroj luchevoj bolezni ovec: Avtoreferat dis. kand. biol. nauk. Obninsk, 1991. 20 s.
- [14] Emchenko N.V., Mal'cev V.N., Gucenko K.K. Vlijanie bakterial'nyh preparatov na vyzhivaemost' obluchennyh zhivotnyh // Radiac. biologija. Radiojekoologija. 1994. T. 34, vyp. 4-5. S. 578-581.
- [15] Stepanov A.V., Litusov N.V., Poberij I.N. Issledovanie radiospecificicheskikh svojstv preparata «Biosporin» // Sbornik materialov nauchno-prakt. konf. Ekaterinburg, 1997. S. 42-45.
- [16] Zholus R.B. Issledovanie radiomodificirujushhij svojstv preparata «biosporin» pri razlichnyh shemah ego primeneniya // Mater. 3 s#ezda po rad. issl. M., 1997. № 2. S. 246-247.
- [17] Budagov R.S., Ul'janova L.P., Pospelova V.V. Biopreparat na osnove Lactobacillus acidophilus novoe sredstvo rannego lechenija kombinirovannyh radiacionnyh - termicheskikh porazhenij // Radiobiologija. 1997. T. 37, № 5. S. 743 s.
- [18] Hafizov A.Sh. Izyskanie radiozashhitnyh sredstv iz klassa veshhestv mикробного proishozhdenija: Avtoreferat dis. ... kand. biol. nauk. Kazan', 2007. 19 s.
- [19] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A. Test of therapeutic and preventive effectiveness of probiotic // Abstr. of International Conference «Probiotics and Prebiotics». Koshica, Slavonia, 2011. 87 p.
- [20] Ratnikova I.A., Gavrilova N.N. Podbor pitatel'noj sredy dlja kul'tivirovaniya molochnokislyh i propionovokislyh bakterij // Biotehnologija. Teorija i praktika. 1999. № 1-2 (9-11). S. 87-91.

**АУЫЛШАРУАШЫЛЫҒЫ МАЛДАРЫ МЕН ҚҰСТАРЫН АРАЛАС ІШЕК ИНФЕКЦИЯСЫНАН
ЕМДЕУДЕ ЖӘНЕ ОНЫҒ АЛДЫН АЛУ ҮШІН ҚОЛДАНЫЛАТЫН ПРОБИОТИКТИҢ
РЕАКТИВИРЛЕУШІ ЖӘНЕ СӘУЛЕ АУРУЛАРЫНА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ**

**И. А. Ратникова¹, Н. Н. Гаврилова¹, К. Баяқышова¹, З. Ж. Турлыбаева¹,
Н. М. Утегенова¹, Л. А. Кошелева¹, О. Г. Чугай²**

¹ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және и вирусология институты»РМК, Алматы, Қазақстан,

²Ұлы Отан Соғысы мүгедектерінің Республикалық клиникалық госпиталі, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: пробиотик, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, радиопротекторлар, реактивирлеуші белсенділік

Аннотация. *E. coli* клеткаларын УФ-сәулесімен сәулелендіргенде, сынаққа алынған пробиотикпен оның құрамына кіретін сүт және пропион қышқылы бактерияларының қорғаныш және реактивирлеуші әсерге ие болатыны анықталды. 2% және 5% мөлшерінде *L. plantarum*-14д культураның *E.coli* суспензиясына

сәулемен өңдеу алдында қосқан кезде, оның сәулеге қарсы белсенділігі өте төмен болатыны белгілі болды (тіісінше: бөлшектеу индексі 200-320). *L. plantarum*-2в/А-6 культурасы 5% концентрацияда ең жоғарғы радиопротекторлық белсенділікке ие (бөлшектеу индексі 56000). Сондай-ақ, пробиотикалық ассоциацияда да жоғары сәулеге қарсы белсенділік болатыны анықталды; оны 2% және 5% мөлшерде пайдаланғанда, сәулемен өңдегеннен кейін *E. coli* –дегі тіршілікке қабілетті клеткалар саны $2,1-2,3 \times 10^9$ КОЕ/мл аралығында болды (бөлшектеу индексі 46000). Пробиотикалық бактериялардың сәуле ауруларына қарсы белсенділігі пайдалынатын қоректік ортаның құрамына байланысты болатыны зерттелінді. Ең жоғарғы сәулеге қарсы әсер (эффeкт) барлық культуралар мен ассоциацияларды МРС және құрама қоректік ортасында өсіргенде анықталды. Жеке культуралар мен ассоциацияны сүт қоректік ортасында өсірілгенде реактивирлеуші белсенділік, өзге қоректік орталармен салыстырғанда 4-5 есе аз болатыны белгілі болды. Бактериялардың сәулендірілген клеткаларындағы жоғары реактивирлеуші әсер (эффeкт) *L. plantarum*-2в/А-6 культурасынан табылды (бөлшектеу индексі 20000). Пробиотик орташа реактивирлеуші әсерге ие (бөлшектеу индексі 620).

Поступила 29.02.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 46 –

INFLUENCE OF CHITIN-GLUCAN COMPLEX AND CHITOSAN OLIGOSACCHARIDE ON THE ACTIVITY β -1,3-GLUCANASE AND CHITINASE OF WHEAT PLANTS

A. Dalelhankhyzy, N. S. Mamytova, Zh. D. Beskempirova,
B. Tilegen, V. A. Kuzovlev, A. A. Khakimzhanov

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: a.khakimzhanov@mail.ru

Keywords: wheat seedlings, β -1,3-glucanase, chitinase, isoenzymes, induction, chitin-glucan complex, chitosan oligosaccharide.

Abstract. In the protection of plants against fungal pathogen fundamental importance are specific substances - elicitors. Among them the best known are starchy substances, such as β -glucan, chitin, chitosan and their oligomeric derivatives. The elicitors are important in cell signal transduction, phytoalexins induction, and activation of defense genes, as well as associated with the pathogenesis PR-proteins. As part of the latest especially importance are hydrolytic enzymes - β -1,3-glucanases and chitinases, which can destroy the cell walls of fungi.

This work is devoted to the a weakly-studied aspect - the effect of chitin-glucan complex (CGC) cell wall (CW) of the fungus *Fusarium graminearum* and chitosan oligosaccharide (COS) on the induction and activation of β -1,3-glucanase and chitinase in wheat seedlings. It was established that these amino carbohydrate agents cause in the stem and root of the rise of glucanase and chitinase activity - the initial (2 and 4 hour) and later period – on the 16 hours. However, in the presence of HOS two-phase pattern of the enzymes activation has been more clearly defined. On the isoenzyme level CGC caused in rout de novo synthesis components β -1,3-glucanase with pI 3.3 and 7.8, and among the chitinases - isoforms with pI 3.1 and 3.5. In the presence of COS in both organs induced isozymes β -1,3-glucanase with pI 7.2 and 8.0. Among the stem chitinases are induced acidic isozymes (pI 3.1, 3.5).

The data show a particularity eliciting properties of CGC and COS in the inducing effect on isozymes of β -1,3-glucanase and chitinase wheat seedlings. Results may be used in biochemistry interactions of plants and phytopathogenic fungi.

ВЛИЯНИЕ ХИТИН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА И ХИТОЗАН ОЛИГОСАХАРИДА НА АКТИВАЦИЮ β -1,3-ГЛЮКАНАЗЫ И ХИТИНАЗЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

А. Далелханкызы, Н. С. Мамытова, Ж. Д. Бескемпирова,
Б. Тилеген, В. А. Кузовлев А. А. Хакимжанов

РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина», г. Алматы

Ключевые слова: проростки пшеницы, β -1,3-глюканаза, хитиназа, изоферменты, индукция, хитин-глюкановый комплекс, хитозан олигосахарид.

Аннотация. В защите растения от грибного патогена принципиальную значимость имеют специфические вещества - элиситоры. Среди них наиболее известны углеводистые вещества, такие как β -глюкан, хитин, хитозан и их олигомерные производные. Элиситоры имеют важное значение в клеточной сигнальной трансдукции, индуцировании фитоалексинов и активации защитных генов, а также связанных с патогенезом PR-белков. В составе последних особую значимость имеют гидролитические ферменты - β -1,3-глюканазы и хитиназы, способные разрушать клеточные стенки грибов.

Данная работа посвящена слабоизученному аспекту - влиянию хитин-глюканового комплекса (ХГК) клеточных стенок (КС) гриба *Fusarium graminearum* и хитозан олигосахарид (ХОС) на индукцию и активацию β -1,3-глюканазы и хитиназы в проростках пшеницы. Установлено, что эти аминокислотные агенты вызывают в стебле и корне подъем глюканазной и хитиназной активности - в начальный (2 и 4 час) и более поздний период - на 16 ч. Однако в присутствии ХОС 2-х фазный характер активизации ферментов был более четко выражен. На изоферментном уровне ХГК вызывал в корне синтез *de novo* компонентов β -1,3-глюканазы с рI 3.3 и 7.8, а в составе хитиназы - изоформ с рI 3.1 и 3.5. В присутствии ХОС в обоих органах индуцировались изоферменты β -1,3-глюканазы с рI 7.2 и 8.0. Среди хитиназ стебля происходила индукция кислых изоферментов (рI 3.1, 3.5).

Представленные данные свидетельствуют о специфичности элиситорных свойств ХГК и ХОС в индуцирующем эффекте на изоферменты β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы. Результаты могут быть использованы в биохимии взаимодействия растений и фитопатогенных грибов.

Введение. К настоящему времени накоплен большой фактический материал об индукции в растениях в ответ на инфицирование вирусами, бактериями и грибами синтеза многих новых белков, так называемых патогенез-связанных, или PR-белков. Эти белки классифицированы в 17 семейств в соответствии с их структурой и свойствами [1]. Особое внимание в связи с изучением механизмов защиты растений от фитопатогенов уделяется PR β -1,3-глюканазам (ЕС 3.2.1.39) и хитиназам (ЕС 3.2.1.14), способным разрушать клеточные стенки грибов [2].

Гидролиз полисахаридов клеточных стенок (хитин-глюкановый комплекс) грибных патогенов, приводящий к образованию элиситор-активных фрагментов, является основной функцией β -1,3-глюканаз и хитиназ, способствуя индукции других защитных реакций. По своей природе большинство известных элиситоров относится к углеводам. В своем обзоре Shibuya N. и Minami E. [3] приводят сведения о доказанных элиситорных свойствах таких веществ, как β -глюкан, хитин, хитозан, их олигосахариды, а также олигогалактурониды.

Углеводистые элиситоры распознаются рецепторными сайтами на поверхности плазматической мембраны растения-хозяина и являются триггерами защитного ответа растения [4, 5]. Расщепляющее действие хитиназ на структуру хитиновых полимеров приводит к образованию хитозан-подобных веществ, накапливающихся особенно внутри гифов. Хитозан обладает высокой ингибиторной активностью в отношении прорастания уредоспор и роста гриба [6]. Олиго- и полимерный хитозан также эффективно индуцирует резистентность путем активации генов защитного ответа [7, 8]. Следует отметить, что элиситоры индуцируют фитоалексины в крайне низких концентрациях, составляющих 10^{-9} и даже 10^{-13} М [9].

Элиситоры имеют важное значение в клеточной сигнализации, индуцировании фитоалексинов, активации защитных генов и белков растения. Обычно это либо поверхностные, либо

выделяемые паразитом вещества, т. е. именно те соединения, которые первыми соприкасаются с поверхностью растения. Помимо упомянутых углеводов, ими могут быть гликопротеины, липополисахариды, липогликопротеиды и др. [10].

К настоящему времени наиболее изученными являются элиситоры аминсахаридной природы, такие как хитин, хитозан и разнообразные их производные - хитоолигосахариды. Проявление элиситорных свойств строго зависит от размера и структуры углевода, количества аминных групп, их расположения и т.д. [11]. Так, например, сравнили олигомеры GlcNAc от тетрамера до декамера, GlcN от пентамера до гептамера, а также N-ацетилированные хитозаны со степенью ацетилирования 1%, 15%, 35%, 60% и степенью полимеризации (СП) от 540 до 1100 по элиситорному эффекту на активность фенил-аммоний лиазы (ФАЛ), пероксидазы (ПО), отложение лигнина и некроз листьев пшеницы. Олигомеры GlcN не обладали элиситорным эффектом, тогда как GlcNAc олигомеры с СП > 7 индуцировали ПО, но не ФАЛ. Частично N-ацетилированные полимерные хитозаны активировали ПО и ФАЛ. Максимум действия проявлял хитозан со средней СП. Хитозаны, но не хитин олигомеры, вызывали отложение лигнина и некрозис. Данные указывают на разные механизмы индукции ферментов, участвующих в лигнификации и некрозисе [12].

Были исследованы различия между хитозаном массой 350 кДа и олигохитозаном (6 кДа) в ингибиторном действии на фитопатогенные грибы. Оба агента сильно тормозили прорастание спор и рост мицелия *Alternaria kikuchiana* и *Physalospora piricola*. Хотя олигохитозан имел лучшее ингибиторное действие на грибковую патогенность *in vitro*, хитозан был более эффективным в контроле болезни. Кроме того, при обработке олигохитозаном увеличивалась активность хитиназы, β -1,3-глюканазы и пероксидазы [13]. Эти результаты свидетельствуют о том, что хитозан и олигохитозан запускают разные механизмы для ингибирования патогенности и контроля болезни.

Данная работа посвящена малоизученному аспекту - действию хитин-глюканового комплекса клеточных стенок гриба *Fusarium graminearum* и хитозан олигосахарида на активацию β -1-3-глюканазы и хитиназы, а также их отдельных изоферментов в проростках пшеницы.

Материалы и методы. Объектами исследования служили 5-ти дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Шортандинская. Проростки обрабатывали различными концентрациями хитин-глюканового комплекса (ХГК) клеточных стенок (КС) гриба *F. graminearum*, полученного в лаборатории и хитозан олигосахарида (ХОС) с массой 5000 Да (Sigma, США) в течение 2-24 ч в стерильных условиях.

Препарат клеточных стенок гриба получали следующим образом. Мицелий после отделения от культурального фильтрата тщательно отмывали водой (7-8 раз), затем 0,1 М NaCl (2-3 раза) и 0,5 М NaCl (4-5 кратная промывка). Не разрушенный мицелий гомогенизировали в блендере с 200 мл 0,5М раствора NaCl и центрифугировали при 3000g. Надосадочную жидкость отбрасывали, осадок растворяли в следующей порции 0,5 М NaCl. Стадию очистки солями повторяли 5-7 раз. Полученный осадок КС отмывали от солей водой (5-7 кратная отмывка) и высушивали. Липофильные и другие полярные компоненты КС экстрагировали этиловым спиртом 24 ч при 22-25°C в соотношении 1/50. КС высушивали лиофильно и хранили при 4-8°C.

Для получения ХГК к 0,5 г КС добавляли 20мл 0,05М ацетатного буфера pH 5.6, содержащего 50 мг целлюлазы (Sigma, США). Взвесь перемешивали и инкубировали 4 ч при 50-51°C. После инкубации взвесь центрифугировали 10 мин при 12000g. КС отделяли и повторяли ферментативный гидролиз в вышеописанных условиях. Супернатант отбирали и инактивировали целлюлазу кипячением на водяной бане при 100°C 7 мин. Смесь охлаждали, выпавший осадок фермента центрифугировали 10 мин при 12000g и отбрасывали. Объединенные фракции гидролизата КС концентрировали в вакуумном испарителе при 37-40°C и лиофильно высушивали.

Активность β -1,3-глюканазы определяли колориметрически по методу [14], а хитиназы - по методу [15]. Нативное изоэлектрофокусирование (ИЭФ) β -1,3-глюканазы и хитиназы проводили в пластинах 5% ПААГ толщиной 1 мм с помощью прибора Multiphor II (LKB, Швеция). В качестве амфолитов использовали Servalyt pH 3-10 (Serva, Германия). Окрашивание пластины ПААГ на хитиназную активность проводили по методу [16], а проявление зон активности β -1,3-глюканазы - по методу [17].

Результаты исследований

Хитин-глюкановый комплекс клеточных стенок *F. graminearum* с массой частиц 2-10 кДа получали ферментативным гидролизом и фракционированием гидролизата на ультрафильтрационной ячейке Amicon (Millipor, США). В работе исследовалось действие 2-х фракций: 20-10 и 10-4 глюкозных остатков. Контролем служили проростки, инкубируемые на дистиллированной воде.

В стеблях под действием 1-й и 2-й фракций ХГК максимальная глюканазная и хитиназная активность наблюдалась на более поздних сроках инкубации (8 и 16 ч). В отличие от стеблей, в корнях активация обоих ферментов происходила двумя выраженными пиками значений – в начальный (на 2 и 4 ч) и более поздний период - на 16 ч (рисунок 1).

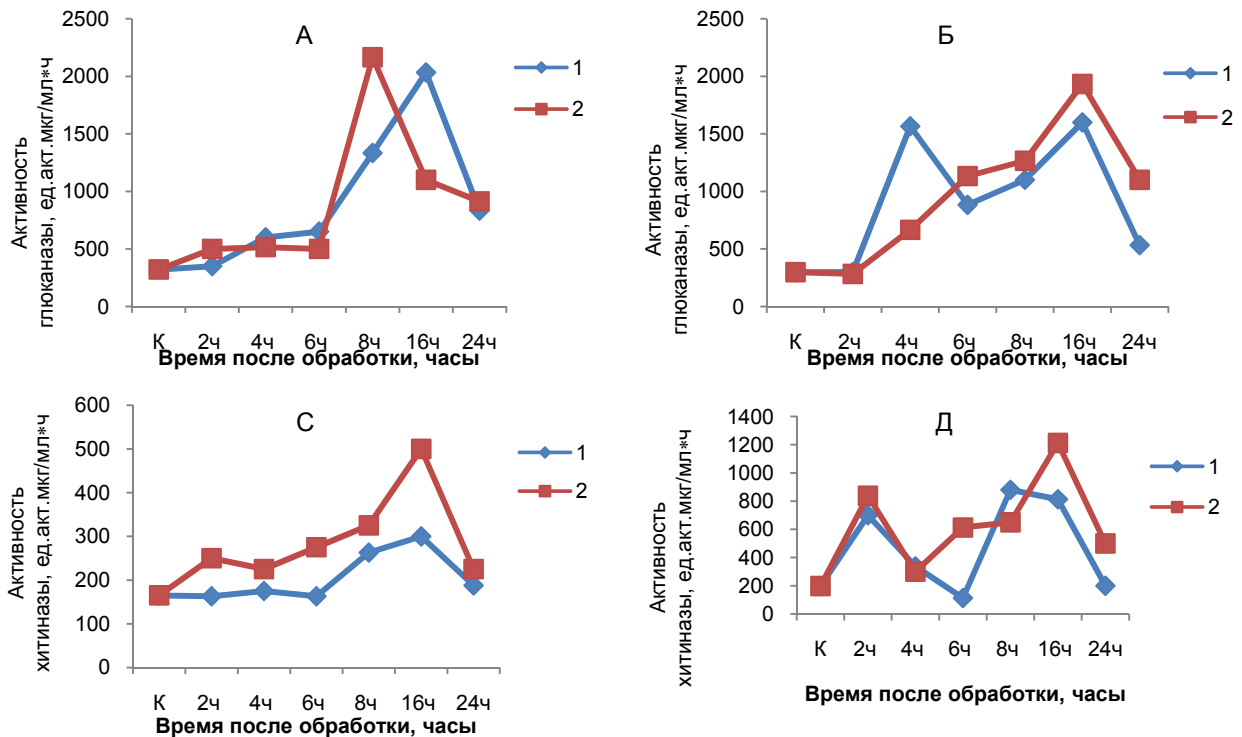


Рисунок 1 – Влияние ХГК КС *F. graminearum* на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы:

А и С – стебель, Б и Д – корень;

1 – 20-10 глюкозных остатков, 2 – 10-4 глюкозных остатков

Картина влияния ХГК на изоферментном уровне представлена на рисунке 2. Видно, что с увеличением продолжительности действия этого агента возрастал синтез β -1,3-глюканазы в стеблях и корнях. При этом можно отметить, что в корне после 2 ч обработки происходил синтез de novo изофермента с pI 3.3, а после 16 ч - компонента с pI 7.8 (рисунок 2А). Кроме того, в обоих органах происходила активация изоформ с pI 5.2, 5.4 и 6.3. В ИЭФ спектре хитиназы (рисунок 2Б) наблюдалась индукция кислых изоформ с pI 3.1 и 3.5 как в корне, так и стебле, а также активация компонентов с pI 4.3 и 7.8 в корне.

Исследовано действие хитозан олигосахарида на индукцию β -1,3-глюканазы и хитиназы в проростках пшеницы. ХОС повышал глюканазную активность в стебле и корне в ранний (2-4 ч) период инкубации. Второй пик активности отмечен позже - на 16 ч инкубации (рисунок 3 А,Б). В концентрации 1 мг/мл воздействие ХОС было больше на 20%, чем при концентрации 0,1 мг/мл. Увеличение активности хитиназы (свыше 3-х крат) в стебле происходило после 2 ч обработки олигосахаридом. В корне также наблюдалось 2-х фазная индукция фермента - после 2 и, особенно, 16 ч инкубации с 1 мг/мл ХОС (рисунок 3С, Д).

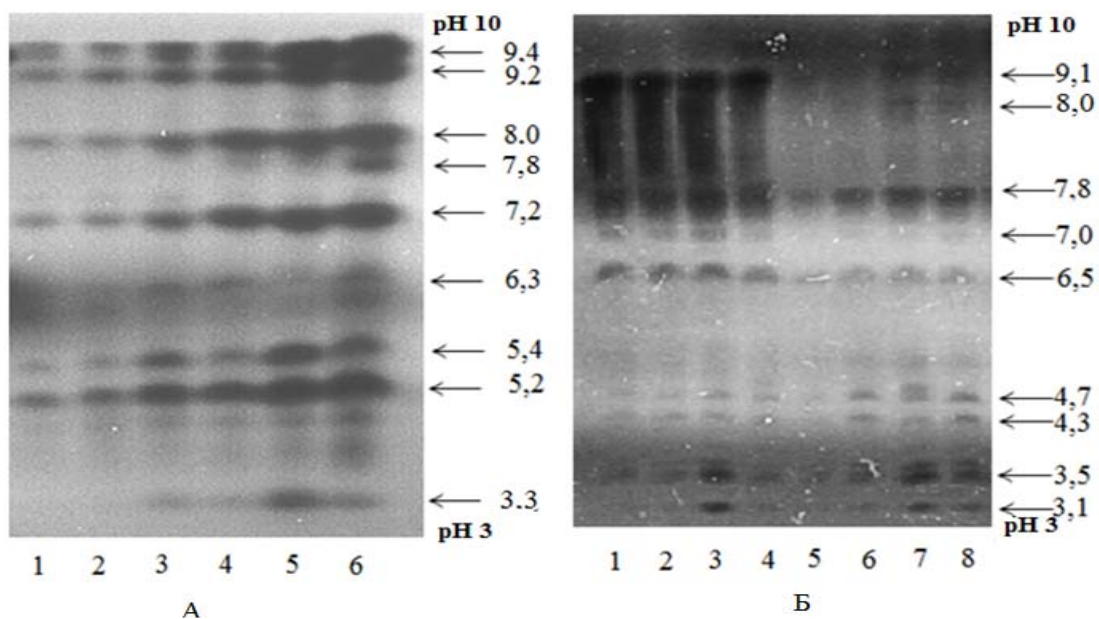


Рисунок 2 – Влияние ХГК КС *F. graminearum* на ИЭФ-спектр β -1,3-глюканазы (А) и хитиназы (Б) проростков пшеницы:
 А: 1 – исходный стебель; 2 – фракция 2, 2 ч; 3 – фракция 2, 8 ч; 4 – исходный корень; 5 – фракция 2, 6 ч; 6 – фракция 2, 16 ч;
 Б: 1 – исходный стебель; 2 – фракция 2, 2 ч; 3 – фракция 1, 16 ч; 4 – фракция 2, 16 ч; 5 – исходный корень;
 6 – фракция 2, 2 ч; 7 – фракция 1, 8 ч; 8 – фракция 2, 16 ч

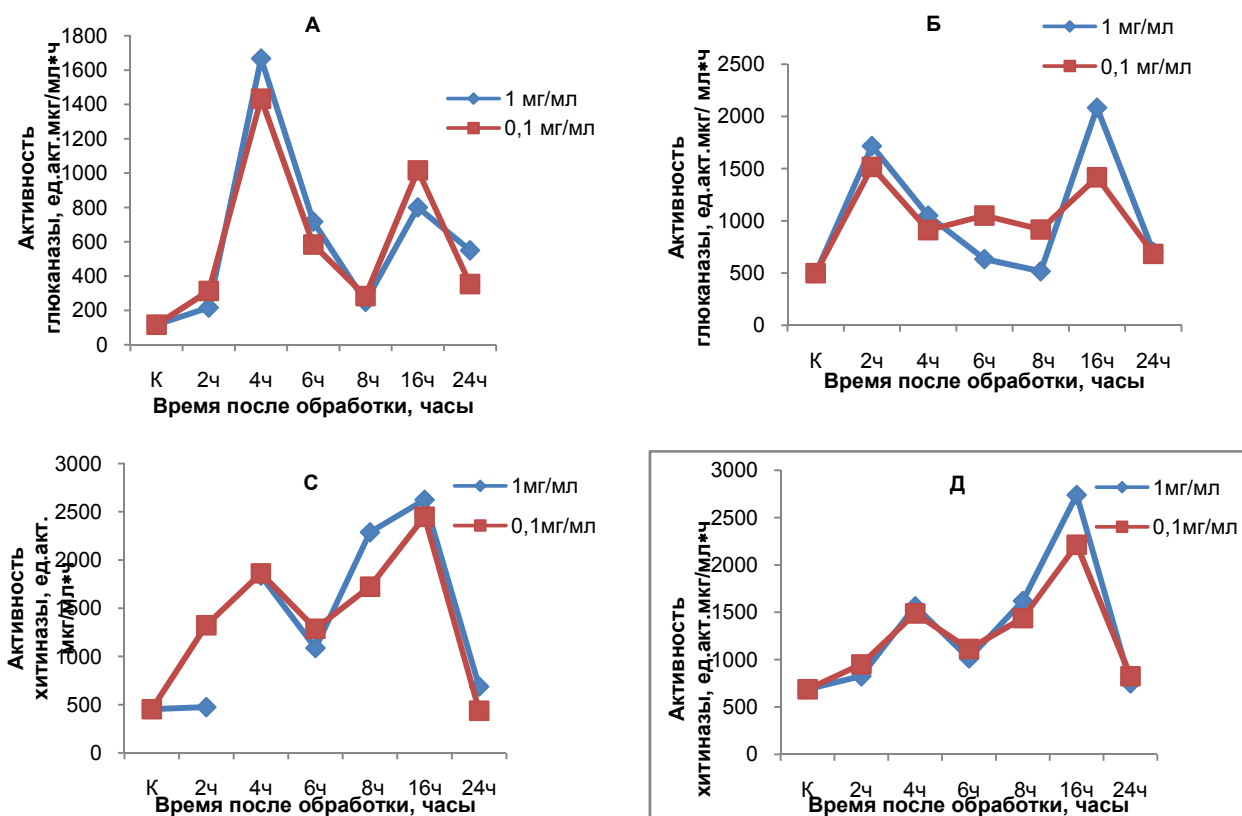


Рисунок 3 – Влияние ХОС на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы:
 А, С – стебель; Б, Д – корень

На рисунке 4 А,Б представлены результаты ИЭФ β -1,3-глюканазы стеблей и корней пшеницы. Видно, что под действием ХОС усиливались изоферменты с pI 5.2 и 5.4 в обоих органах, а также щелочной компонент с 9.1 в стебле. Особо следует отметить индукцию в обоих органах синтеза de novo 2-х изоформ с pI 7.2 и 8.0. В составе хитиназы стебля происходила индукция и активация кислых изоферментов (pI 3.1, 3.5).

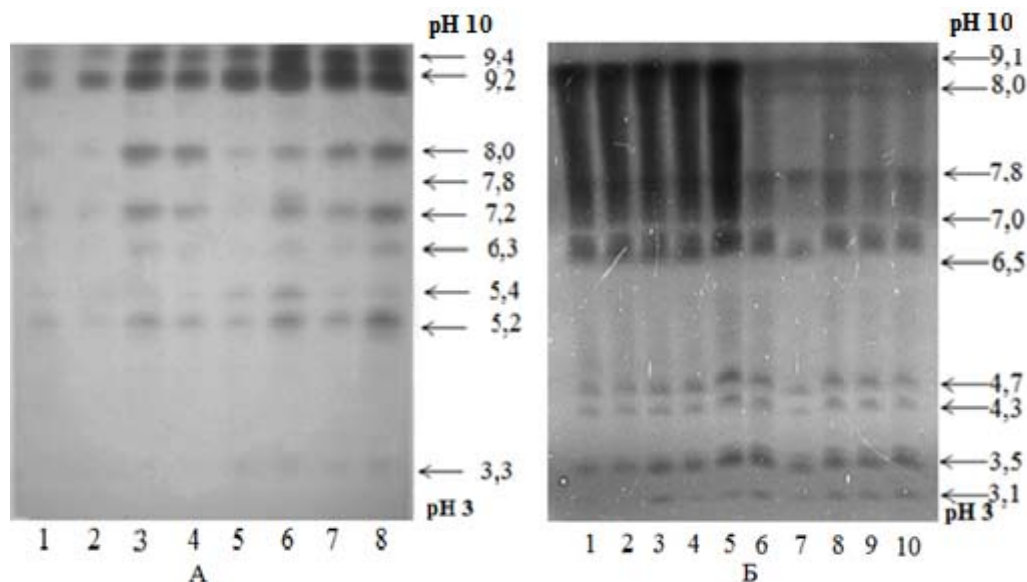


Рисунок 4 – Влияние ХОС на ИЭФ-спектр β -1,3-глюканазы (А) и хитиназы (Б) проростков пшеницы:
 А: 1 – исходный стебель; 2 – 2 ч; 3 – 4 ч; 4 – 16 ч; 5 – исходный корень; 6 – 2 ч; 7 – 4 ч; 8 – 16 ч;
 Б: 1 – исходный стебель; 2 – 0,1 мг/мл ХОС, 2 ч; 3 – 0,1 мг/мл, 4 ч; 4 – 1 мг/мл, 8 ч; 5 – 1 мг/мл, 16 ч;
 6 – исходный корень; 7 – 1 мг/мл, 2 ч; 8 – 1 мг/мл, 4 ч; 9 – 1 мг/мл, 8 ч; 10 – 1 мг/мл, 16 ч

В отличие от хитин-глюканового комплекса и хитозан олигосахарида другие испытанные нами углеводистые полимеры, входящие в состав клеточных стенок – ламинарин, хитин (в коллоидной форме), целлюлоза и ее водорастворимые производные, не оказывали существенного действия на β -1,3-глюканазу и хитиназу проростков пшеницы.

Обсуждение результатов. Исследовано влияние хитин-глюканового комплекса клеточных стенок *F. graminearum* и хитозанолигосахарида массой 5 кДа на активность β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы. При воздействии ХГК в стеблях максимум глюканазной и хитиназной активности наблюдался на поздних сроках инкубации (8-16 ч). В корнях активация обоих ферментов происходила 2-мя пиками значений – в начальный (2 и 4 ч) и поздний (16 ч) периоды. Похожим элиситорным эффектом на проростки пшеницы обладал олигосахарид хитозана. Однако в присутствии этого агента 2-х фазный характер активизации ферментов был более четко выраженным.

На изоферментном уровне ХГК КС вызывал в корне синтез de novo компонентов β -1,3-глюканазы с pI 3.3 и 7.8, а в составе хитиназы - изоформ с pI 3.1 и 3.5. В присутствии ХОС в обоих органах индуцировались 2 изофермента β -1,3-глюканазы с pI 7.2 и 8.0. Среди хитиназ стебля, как и в случае с ХГК, происходила индукция кислых изоферментов (pI 3.1, 3.5).

Таким образом, гидролизат клеточных стенок гриба *F. graminearum* и хитоолигосахарид обладают индуцирующим действием на пшеничные проростки, вызывая в них появление и усиление синтеза ряда изоферментов хитиназ и глюканаз. В отличие от ХГК и ХОС, другие испытанные полимеры ламинарин, хитин, целлюлоза, а также водорастворимые фрагменты целлюлозы, не оказывали существенного влияния на активность и состав глюканазы и хитиназы проростков пшеницы.

Представленные данные свидетельствуют об особенностях в специфичности элиситорных свойств компонентов хитин-глюканового комплекса и хитозан олигосахаридов среднего размера в индуцирующем эффекте на изоферменты β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы.

Полученные результаты подтверждают важность структуры и размерности соединений в проявлении элиситорных свойств.

Источник финансирования исследований. Министерство образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ebrahim S., Usha K., Singh B. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism // In: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, A. Mendez-Vilas (ed.) 2011. P. 1043-1054.
- [2] Sharma V. Pathogenesis related defence functions of plant chitinases and β -1,3-glucanases // *Vegetos*. 2013. Vol. 26. P. 205-218.
- [3] Shibuya N., Minami E. Oligosaccharide signalling for defence responses in plant // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001. Vol. 59. P. 223-233.
- [4] Okada M., Matsumara M., Ito Y., Shibuya N. High-affinity binding proteins for N-acetylchitoooligosaccharide elicitor in the plasma membranes from wheat, barley, and carrot cells: conserved presence and correlation with the responsiveness to the elicitor // *Plant Cell Physiol.* 2002. Vol. 43(5). P. 505-512.
- [5] Hanae K., Yoko N., Naoko I-M., Chiharu A-T., Naoshi D., Koji T., Eiichi M., Naoto Sh., Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor // *PNAS*. 2006. Vol. 103 (29). P. 11086-11091.
- [6] Xu J.G., Zhao X.M., Han X.W., Du Y.G. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro // *Pesticide Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 87. P. 220-228.
- [7] Ning W., Chen F., Mao B.Z., Li Q., Lui Zh.X., Guo Z.J., He Z.H. N-acetylchitoooligosaccharides elicit rice defence responses including hypersensitive response-like cell death, oxidative burst and defence gene expression // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2004. Vol. 64. P. 263-271.
- [8] Amboraber B-E., Bonmort J., Fleurat-Lessard P., Roblin G., Early events induced by chitosan on plant cells // *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59(9). P. 2317-2324.
- [9] Mishra A.K., Sharma K., Misra R.S. Elicitor recognition, signal transduction and induced resistance in plants // *J. Plant Interact.* 2012. Vol. 7(2). P. 95-120.
- [10] Дьяков Ю.Т. Грибные элиситоры // *Мат. VII Всерос. микологич. школы-конф. с междунар. участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами»*. Изд-во МГУ, 2015. – С. 18-38.
- [11] No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights // *Int. J. Food Microbiol.* 2002. Vol. 74(1-2). P. 65-72.
- [12] Vander P., Varum K., Domard A., Gueddari N-E., Moerschbacher B. Comparison of the ability of partially N-acetylated chitosans and chitoooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves // *Plant Physiol.* 1998. Vol. 118. P. 1353-1359.
- [13] Meng X., Yang L., Kennedy J., Tian S. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit // *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81. P. 70-75.
- [14] Nichols E.J., Beckman J.M., Hadwiger L.A. Glycosidic enzyme activity in pea tissue and pea-*Fusarium solani* interactions // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 66. P. 199-204.
- [15] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Chitinases and β -1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.) // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 270-275.
- [16] Trudel J., Asselin A. Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis // *Anal. Biochem.* 1989. Vol. 178. P. 362-366.
- [17] Shen Q. Pan, Xiang S.Ye, Kuc J. A technique for detection of chitinase, β -1,3-glucanases, and protein patterns after a single separation using polyacrylamide gel electrophoresis or isoelectrofocusing // *Phytopathology*. 1991. Vol. 9(9). P. 970-974.

REFERENCES

- [1] Ebrahim S., Usha K., Singh B. In: Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, A.Mendez-Vilas (ed.) 2011. P. 1043-1054.
- [2] Sharma V. *Vegetos*. 2013. Vol. 26. P. 205-218.
- [3] Shibuya N., Minami E. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001. Vol. 59. P. 223-233.
- [4] Okada M., Matsumara M., Ito Y., Shibuya N. *Plant Cell Physiol.* 2002. Vol. 43(5). P. 505-512.
- [5] Hanae K., Yoko N., Naoko I-M., Chiharu A-T., Naoshi D., Koji T., Eiichi M., Naoto Sh., *PNAS*. 2006. Vol. 103 (29). P. 11086-11091..
- [6] Xu J.G., Zhao X.M., Han X.W., Du Y.G. *Pesticide Biochem. Physiol.* 2007. Vol. 87. P. 220-228.
- [7] Ning W., Chen F., Mao B.Z., Li Q., Lui Zh.X., Guo Z.J., He Z.H. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2004. Vol. 64. P. 263-271.
- [8] Amboraber B-E., Bonmort J., Fleurat-Lessard P., Roblin G., *J. Exp. Bot.* 2008. Vol. 59 (9). P. 2317-2324.
- [9] Mishra A.K., Sharma K., Misra R.S. *J.Plant Interact.* 2012. Vol. 7 (2). P. 95-120.
- [10] Dyakov Y.T. *Mat. VII Vseros. micologich. shcoly – conf. s mezhdunar. uchastiem «Bioticheskie svyazi gribov: mosty mezhdu tzarstvami»*. Izd. MGU, 2015. S. 18-38.
- [11] No H.K., Park N.Y., Lee S.H., Meyers S.P. *Int. J. Food Microbiol.* 2002. Vol. 74(1-2). P. 65-72.
- [12] Vander P., Varum K., Domard A., Gueddari N-E., Moerschbacher B. *Plant Physiol.* 1998. Vol. 118. P. 1353-1359.
- [13] Meng X., Yang L., Kennedy J., Tian S. *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81. P. 70-75.
- [14] Nichols E.J., Beckman J.M., Hadwiger L.A. *Plant Physiol.* 1980. Vol. 66. P. 199-204.
- [15] Fink W., Liefland M., Mendgen K. *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 270-275.
- [16] Trudel J., Asselin A. *Anal. Biochem.* 1989. Vol. 178. P. 362-366.
- [17] Shen Q. Pan, Xiang S.Ye, Kuc J. *Phytopathology*. 1991. Vol. 9(9). P. 970-974.

**ХИТИН-ГЛЮКАНДЫ КЕШЕНІ МЕН ХИТОЗАН ОЛИГОСАХАРИДТІҢ
БИДАЙ ӨСКІНДЕРІНДЕГІ β -1,3-ГЛЮКАНАЗА ЖӘНЕ
ХИТИНАЗА БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ**

**А. Дәлелханқызы, Н. С. Мамытова, Ж. Д. Бескемпірова,
Б. Тілеген, В. А. Кузовлев, А. А. Хакімжанов**

ҚР БҒМ ҒК М. А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты,
Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: бидай өскіндері, β -1,3-глюканаза, хитиназа, изоферменттер, индукция, хитин-глюкан кешені, хитозанолигосахарид

Аннотация. Элиситорлар – өсімдіктерді саңырауқұлақ патогенінен қорғауда маңызды қызмет атқаратын арнайы заттар. Олардың арасында көбірек танылғаны β -глюкан, хитин, хитозан және олардың олигомерлі туындылары сияқты көмірсулы заттар. Элиситорлар жасушаның сигналдық трансдукциясында, фитоалексиндерді индуцирлеуде және қорғаныс гендерінің, сондай-ақ патогенездерімен байланысты PR – ақуыздарының белсенділігін арттыруда маңызды рөл атқарады. Соңғысының құрамында саңырауқұлақтардың жасуша қабығын бұзуға қабілетті β -1,3-глюканаза және хитиназа гидролитикалық ферменттері ерекше орын алады.

Бұл жұмыс аз зерттелген аспектілер – *Fusarium graminearum* саңырауқұлағының жасушалық қабығының (ЖҚ) хитин – глюкан кешенінің (ХГК) және хитозан олигосахаридтің (ХОС) бидай өскініндегі β -1,3-глюканаза және хитиназа ферменттерінің индукциясы және белсенділігіне арналған. Осы аминокөмірсулы агенттер сабақ пен тамырдағы глюканаза және хитиназа белсенділігін – бастапқы (2 және 4 сағат) және соңғы кезеңінде – 16 сағатта жоғарылататыны анықталды. Алайда ХОС әсер еткенде ферменттердің 2 фазалық белсенділігі біршама анық байқалған. Изоферментті деңгейде ХГК тамырда β -1,3-глюканазаның рІ 3.3 және 7,8 компоненттерінің, ал хитиназа құрамының – рІ 3.1 және 3.5 изоформаларының de novo синтезін тудырды. ХОС қатысында аталған мүшелерде β -1,3-глюканазаның рІ 7.2 және 8.0 изоферменттері индуцирленді. Сабақта хитиназаның қышқылдық изоферменттерінің (рІ 3.1, 3.5) индукциясы жүрді.

Келтірілген мәліметтер ХГК мен ХОС бидай өскініндегі β -1,3-глюканаза және хитиназа изоферменттеріне индуцирлік әсер етіп, ерекше элиситорлық қасиет көрсететіні дәлелдеді. Нәтижелер өсімдіктер мен фитиопатогенді саңырауқұлақтардың өзара қарым-қатынасы энзимологиясында пайдаланылуы мүмкін.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 54 – 58

**ON THE APPEARANCE OF BROWN RAT (*RATTUS NORVEGICUS*)
NEAR THE SOUTHERN COAST OF BALKHASH LAKE
IN THE SOUTHERN BALKHASH DESERT PLAGUE OUTBREAK**

A. Zh. Zhatkanbayev, S. M. Nyssambayeva, D. M. Zhatkanbayeva

Institute of Zoology, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: kz.wildlife@gmail.com

Keywords: Balkhash, desert, hearth, outbreak, brown rat (*Rattus norvegicus*), photographic images, photo-traps (Reconyx PC900 Professional).

Abstract. This article provides information about a gradual territorial expansion of Brown rat (*Rattus norvegicus*) around Almaty, since the formation of its persistent populations in largest metropolitan areas of the Republic of Kazakhstan (based on literature review). On the basis of photographic images by installed Reconyx PC900 Professional camera traps the first evidence of the habitats of Brown rat in the village Karaoy in Balkhash district of Almaty administrative region, in the north-western tip of edge of the Balkhash desert outbreak of plague in the South-East of Kazakhstan.

УДК 599.32.551.45.377.(574)

**О ПОЯВЛЕНИИ СЕРОЙ КРЫСЫ (*RATTUS NORVEGICUS*)
У ЮЖНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ОЗЕРА БАЛХАШ –
В ПРИБАЛХАШСКОМ ПУСТЫННОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ**

А. Ж. Жатканбаев, С. М. Нысамбаева, Д. М. Жатканбаева

Институт зоологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: Прибалхашский, пустынный, очаг, чума, серая крыса (*Rattus norvegicus*), фотофиксация, фотоловушка (Reconyx PC900 Professional).

Аннотация. Приводятся сведения о постепенной территориальной экспансии серой крысы (*Rattus norvegicus*) вокруг г. Алматы с момента формирования ее стойкой популяции в крупнейшем мегаполисе Республики Казахстан (на основе анализа литературных источников). На основе фотофиксаций фотоловушки Reconyx PC900 Professional установлен первый факт, свидетельствующий об обитании серой крысы в пос. Караой Балхашского района Алматинской области, в северо-западной краевой оконечности Прибалхашского пустынного очага чумы на юго-востоке Казахстана.

В последние три с половиной десятилетия серая или амбарная крыса, также называемая пасюком (*Rattus norvegicus*), активно расселяется по территории юго-востока Казахстана. Она стала обычным видом грызунов малых городов Алматинской области и многих поселков, прилегающих к г. Алматы. Несмотря на то, что для серой крысы в значительной степени свойственна синантропность, она может не только выживать, но и создавать устойчивые популяции в условиях дикой природы. К тому же зверек является достаточно влаголюбивым видом грызунов и его тяготение к прибрежным биотопам обусловлено потребностью в воде.

Временной период сформировавшихся устойчивых поселений пасюка в г. Алматы и его ближайших окрестностях относится к 1982-1983 гг. [1]. Продолжая расселяться из г. Алматы,

серая крыса в 1990-1993 гг. стала новым видом в составе фауны млекопитающих Алматинского заповедника, заселив многие кордоны и поднявшись до альпинистского лагеря «Талгар» на высоте 2600 м над ур. моря [2]. Кроме того, в 1996-1997 гг. эта крыса также образовала стойкий очаг расселения на высоте 1850 м над ур. моря в пос. Арман Талгарского района Алматинской области, находящегося в ущелье Солдатсай среднегорья Илейского (Заилийского) Алатау, а также освоила новое местообитание на высоте 2470 м над ур. моря [3].

Вместе с освоением новых местообитаний в горах Северного Тянь-Шаня расселение пасюка с той же интенсивностью происходило и в Таукумский пустынный очаг чумы [3]. Следует отметить, что к югу от озера Балхаш расположены два природных очага чумы: Таукумский пустынный и Прибалхашский пустынный [4]. Ранее Прибалхашский очаг разделяли еще на два - Илийский и Сарыишикотрауский [5].

На территории Казахстана расположены природные очаги чумы, занимающие почти всю его южную половину, которые составляют 39% от общей территории страны. Они являются наиболее активными по сравнению с другими существующими очагами чумы в странах СНГ [4].

Интересно отметить, что в публикации А.В. Афанасьева «Грызуны Прибалхашья» [6] для периода исследований 1936-1943 гг. ни один из видов крыс не приводился в качестве обитающего в прибалхашском географическом регионе (южной и северной его частях).

В Кыргызской Республике в г. Бишкек в 1989-1991 гг. выявлено существование двух популяций серой крысы, заселившей город при непреднамеренном ее завозе по железной дороге [7]. В 1994-1995 гг. помимо Бишкека обитание пасюка обнаружено еще в 8 населенных пунктах Чуйской долины и предполагалось резкое усиление территориальной экспансии зверька в дальнейшем [8].

Очаг расселения серой крысы в Алматинской области первоначально связан с завозами особей в г. Алматы (ранее не входивший в его ареал) в основном железнодорожным транспортом. Любопытно отметить, что в ее расселении в соседнем с Казахстаном Узбекистане играет определенную роль и пассажирский железнодорожный транспорт [9].

Следует отметить, что до периода начала 1980-х гг. серая крыса хоть и появлялась в г. Алматы, но не указывалось о произошедшей натурализации зверька и создавшего здесь перманентно выживающую популяцию. В этом отношении можно указать на первый завоз крыс в г. Алматы, о котором сообщает В. Н. Шнитников [10], когда в первых числах ноября 1929 г. вместе с привезенным из г. Кызылорды в деревянном ящике роялем прибыли и крысы. Но вместе с тем не было установлено, к какому виду крыс относились завезенные зверьки, хотя и отмечено, что в соседнем Кыргызстане в пос. Рыбачье в 1930 г. обитал другой близкородственный вид - туркестанская крыса (*Rattus turkestanicus*), попавший туда, очевидно, через сообщение с ж/д станцией Пишпек, на которую была проведена железная дорога несколькими годами ранее. В отношении туркестанской крысы – единственного аборигенного вида Средней Азии О.В. Митропольский [11] указывает, что ее распространение было связано с древними оазисами, но позже она во многих местах вымерла. По долинам среднего и нижнего течений р. Амударья туркестанская крыса нигде уже не встречается, а ближайшие ее поселения находятся в древних искусственных посадках грецкого ореха на северном макросклоне горного хребта Нуратау в Узбекистане [11].

В 1970-1980-х гг. основной ареал серой крысы в Казахстане (без учета новых островных очагов обитания) занимал северные регионы республики с запада до востока к северу от воображаемой линии: г. Уральск - г. Актобе - ж/д ст. Есиль - г. Целиноград - г. Караганда – восточное побережье оз. Зайсан [12, 13]. Сформировавшиеся природные популяции серой крысы на период середины 1970-х гг. находились в пойме р. Урал, дельте р. Волга и Южно-Казахстанской области. Следует отметить, что нативная казахстанская популяция серой крысы, обитающая в западной части республики (в самом северном, называемом «Уральским», участке поймы р. Урал в Западно-Казахстанской области РК, граничащим с территорией РФ), находилась в 1996-2012 гг. в снижающемся тренде и ее численность снизилась по сравнению с более ранними периодами наблюдений [14]. Более того, пасюк не встречался на территории соседнего с «Уральским» «Чапаевском» участке, расположенном южнее от предыдущего (к югу от г. Уральск). Возникшую ситуацию с местной популяцией амбарной крысы связывали с происходящей общей аридизацией климата, а она в этом регионе обитает во влажных природных биотопах [14].

В современный период времени (по 2014 г. включительно) сокращение численности серой крысы и паразитирующей на ней блохи *Megabothris walkeri* Roths., 1902 наблюдалось в Западно-Казахстанской области [15]. В этой работе также указывается, ссылаясь на публикацию В. П. Милуновой и др. (1964), что блоха *Nosopsyllus fasciatus* Bosc., 1801 является редким видом, обнаруженным лишь однажды на серых крысах в г. Уральск в середине 1950-х гг. Вместе с тем, не указывается, что эти два вида блох являются одними из переносчиков (второстепенных) бактерии *Yersinia pestis*, а серая крыса ее носителем в Урало-Уилском (бывшем Зауральском) степном очаге чумы [4]. Согласно картосхем, имеющихся в этой публикации, территория Урало-Уилского степного очага чумы либо захватывает южные места обитания (в естественноприродной обстановке) серой крысы в Западно-Казахстанской области, или, как минимум, его границы находятся в самой непосредственной близости к ним. Видовое разнообразие носителей и переносчиков чумы здесь относительно многочисленно. При этом, основным ее носителем здесь является малый суслик (*Spermophilus pygmaeus pygmaeus*), а основными переносчиками – блохи *Neopsylla setosa* и *Citellophilus tesquorum* [4].

Серая крыса восприимчива к большинству видов возбудителей инфекционных и инвазионных заболеваний, и она играет большую роль в возникновении эпизоотий и эпидемий. Хорошо известно, что распространение эпидемии чумы в Европе в прошлом напрямую было связано с главенствующей ролью амбарной крысы в этом процессе. В связи с происходящим расселением пасюка в горных районах близ г. Алматы вопросы о вероятности постоянства обитания серой крысы в ближайших к городу очагах чумы в дальнейшей перспективе и возможности ее вовлечения в эпизоотологические и эпидемиологические процессы в природных очагах в общих чертах были обозначены еще в 1996-1997 гг. [3].

Следует отметить, что по устному сообщению З.А. Байдаболова (бывший работник Баканасского отделения Талдыкорганской противочумной станции) устойчивые поселения серой крысы в поселках Баканас и ближайшем от него - Акдала в Балхашском районе Алматинской области сформировались к концу 2000-х и в начале 2010-х гг. вследствие постепенного вселения сюда (случайного завоза на автомобильном транспорте) этого чужеродного вида. Таким образом, территориальная экспансия пасюка, продолжаясь в конце 1990-х гг., достигла северно-западных границ Прибалхашского пустынного очага чумы.



Взрослая особь серой крысы в правом нижнем углу на снимке, произведенном фотоловушкой Reconyx PC900 Professional, установленной А. Ж. Жатканбаевым

При проведении исследований в 2015 г. по грантовому научному проекту Комитета науки Министерства образования и науки РК в Балхашском районе Алматинской области впервые выявлено обитание серой крысы в пос. Караой – месте стационарного базирования Караойского противоэпидемического отряда Талдыкорганской противочумной станции в весенний и осенний сезоны. В результате фотофиксаций фотоловушки Reconnex PC900 Professional, установленной на юго-восточной оконечности этого поселка, в ночь с 13 на 14 сентября 2015 г. (02 час 15 мин) отснята взрослая особь амбарной крысы, передвигавшаяся по поверхности почвы в поисках корма в 50–60 м от жилых и складских построек (см. рисунок).

Данный факт на текущий момент (конец 2015 г. – начало 2016 г.) считается практически первым случаем нахождения живой особи серой крысы уже в северо-западной краевой части Прибалхашского пустынного очага чумы.

Важно отметить, что возбудитель чумы может на время проникать за пределы пустынного очага и вызывать на прилегающих территориях эпизоотии среди грызунов [5]. Следует также указать, что зафиксированная фотоловушкой серая крыса находилась всего в 500–700 м от ближайших жилых колоний большой песчанки (*Rhombomys opimus*), расположенных непосредственно вдоль полотна асфальтированной автотрассы, заканчивающейся в пос. Караой. Таким образом, вопрос о вовлечении пасюка в циркуляцию и распространение микроба чумы в природном очаге в Южном Прибалхашье требует дальнейшего изучения и заслуживает особого внимания со стороны специалистов противочумной службы. При этом можно рассматривать возможную роль серой крысы в качестве передаточного звена по расширению границ и площади этого природного очага чумы к югу и теоретически вероятному включению в него многих поселков и городов, расположенных на прилегающих территориях. Таким образом, возможная эпизоотологическая и эпидемиологическая роль серой крысы в связи с ее территориальной экспансией в поселки в южноприбалхашском географическом регионе, расположенном в недалеком соседстве с крупнейшим мегаполисом республики, возрастает во много раз и уже в среднесрочной перспективе может оказаться особо актуальной.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Алымкулова А.А., Торопова В.И., Бурделов Л.А. Расселение серой крысы в Чуйской долине // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 1995. – Т. 3. – С. 86.
- [2] Жиряков В.А. Серая крыса – новый вид для фауны млекопитающих Алма-Атинского заповедника // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 1996-1997. – С. 246.
- [3] Шейкин А.О. О вселении серой крысы (*Rattus norvegicus* Berkenhout) в субальпийский пояс Заилийского Алатау // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 1996-1997. С. 110.
- [4] Атшабар Б.Б., Бурделов Л.А., Агеев В.С., Аубакиров С.А., Дубянский В.М., Гражданов А.К., Жумадилова З.Б., Избанова У.А., Кузнецов А.Н., Куница Т.Н., Лухнова Л.Ю., Малахов Д.В., Мека-Меченко В.Г., Мека-Меченко Т.В., Некрасова Л.Е., Нурмаханов Т.И., Пазылов Е.К., Поле С.Б., Приходько Д.Е., Рыбакова М.А., Садовская В.П., Сапожников В.И., Сыздыков М.С. Атлас распространенности бактериальных и вирусных зоонозных инфекций в Казахстане. – Алматы, 2010. – 122 с.
- [5] Бурделов Л.А., Сабилаев А.С., Касенова А.К., Махнин Б.В. Об автономных частях Среднеазиатского пустынного очага чумы // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 2000. – № 1-4. – С. 171-178.
- [6] Афанасьев А.В. Грызуны Прибалхашья // Изв. АН КазССР. Серия зоол. – 1945. – Вып. 5. – С. 4-19.
- [7] Торопова В.И., Командиров А.В., Борисова М.Г. *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769 (*Muridae, Mammalia*) – новый вид для фауны млекопитающих Кыргызстана // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 1994. – Т. 2. – С. 97-98.
- [8] Бурделов Л.А., Алымкулова А.А., Торопова В.И. К особенностям экологии пасюка в Бишкеке и других населенных пунктах Чуйской долины // Казахстанский зоологический журнал *Selevinia*. – 1996-1997. – С. 244.
- [9] Быкова Е.А. Роль пассажирского железнодорожного транспорта в расселении грызунов в условиях Узбекистана // Казахстанский зоологический ежегодник *Selevinia*. – 2003. – С. 191-194.
- [10] Шнитников В.Н. Млекопитающие Семиречья. – М.; Л., 1936. – 323 с.
- [11] Митропольский О.В. Вековое потепление климата и изменения ареалов птиц и млекопитающих в Средней Азии // Казахстанский зоологический ежегодник *Selevinia*. – 2008. – С. 113-122.
- [12] Борисенко В.А. Серая, или амбарная, крыса, пасюк – *Rattus norvegicus* Berkenhout (1769) // Млекопитающие Казахстана. – Алма-Ата, 1977. – Т. 1, ч. 2. – С. 369-383.
- [13] Книга генетического фонда фауны Казахской ССР. – Ч. 1. Позвоночные животные. – Алма-Ата, 1989. – 216 с.
- [14] Танитовский В.А., Бидашко Ф.Г., Аязбаев Т.З., Майканов Н.С., Кусаинов Б.Н., Суров В.В., Пак М.В., Кубатко С.Н. Видовой состав мелких млекопитающих долины реки Урал // Зоологический ежегодник Казахстана и Центральной Азии *Selevinia*. – 2013. – Т. 21. – С. 82-87.

[15] Майканов Н.С., Танитовский В.А., Аязбаев Т.З., Бидашко Ф.Г., Кдырсихова Г.Г., Жунусбекова С.Б., Шамарова Г.М., Айтимова А.Г. Материалы по блохам теплокровных животных Западно-Казахстанской области // Зоологический ежегодник Казахстана и Центральной Азии Selevinia. – 2014. – Т. 22. – С. 177-184.

REFERENCES

- [1] Alymkulova A.A., Toropova V.I., Burdelov L.A. Settling of Brown rat in Shu River Valley // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 1995. Vol. 3. P. 86 (in Russ.).
- [2] Zhiryakov V.A. Brown rat - a new species for the fauna of mammals in Almaty reserve // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 1996-1997. P. 246 (in Russ.).
- [3] Sheykin A.O. The universe of Brown rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) in the subalpine zone of Ile Alatau mountains // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 1996-1997. P. 110 (in Russ.).
- [4] Atshabar B.B., Burdelov L.A., Ageev V.S., Aubakirov S.A., Dubyanskiy V.M., Grazhdanov A.K., Zhumadilova Z.B., Izbanova U.A., Kuznetsov A.N., Kunitsa T.N., Lukhnova L.Y., Malakhov D.V., Meka-Mechenko V.G., Meka-Mechenko T.V., Nekrasova L.E., Nurmakhanov T.I., Pazylov E.K., Pole S.B., Prikhod'ko, D.E., Rybakova M.A., Sadovskaya V.P., Sapozhnikov V.I., Syzdykov M.S. Atlas prevalence of bacterial and viral zoonotic infections in Kazakhstan. Almaty, 2010. 122 p. (in Russ.).
- [5] Burdelov L.A., Sabillayev A.S., Kasenova A.K., Makhnin B.V. On autonomous parts of Central Asian desert plague site // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 2000. N 1-4. P. 171-178 (in Russ.).
- [6] Afanassiev A.V. Rodents around of Balkhash Lake // News of Academy of Sciences of the KazSSR. Series Zool. 1945. Vol. 5. P. 4-19 (in Russ.).
- [7] Toropova V.I., Komandirov A.V., Borisova M.G. *Rattus norvegicus* Berkenthout, 1769 (*Muridae, Mammalia*) - a new species of mammal fauna of Kyrgyzstan // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 1994. Vol. 2. P. 97-98 (in Russ.).
- [8] Burdelov L.A., Alymkulova A.A., Toropova V.I. The peculiarities of ecology Brown rat in Bishkek and other towns of Shu River Valley // Kazakhstan's Zoological Journal Selevinia. 1996-1997. P. 244 (in Russ.).
- [9] Bykova E.A. The role of passenger rail transport in the settling of rodents in Uzbekistan // Kazakhstan's Zoological Yearbook Selevinia. 2003. P. 191-194 (in Russ.).
- [10] Schnitnikov V.N. Mammals of Semirech'ye. M.; L., 1936. 323 p. (in Russ.).
- [11] Mitropolskiy O.V. The secular climate warming and changing ranges of birds and mammals in Central Asia // Kazakhstan's Zoological Yearbook Selevinia. 2008. P. 113-122 (in Russ.).
- [12] Borisenko V.A. Brown or Barn rat, Pasyuk - *Rattus norvegicus* Berkenhout (1769) // Mammals Kazakhstan. Almaty, 1977. Vol. I, p. 2. P. 369-383 (in Russ.).
- [13] The Book of the genetic fund of fauna of the Kazakh SSR. Part 1. Vertebrates. Almaty, 1989. 216 p. (in Russ.).
- [14] Tanitovskiy V.A., Bidashko F.G., Ayazbayev T.Z., Maykanov N.S., Kusainov B.N., Surov V.V., Pak M.V., Kubatko S.N. The species composition of small mammals of the Ural River Valley // Zoological Yearbook of Kazakhstan and Central Asia Selevinia. 2013. Vol. 21. P. 82-87 (in Russ.).
- [15] Maykanov N.S., Tanitovskiy V.A., Ayazbayev T.Z., Bidashko F.G., Kдырсихова G.G., Zhunusbekova S.B., Shamarova G.M., Aytimova A.G. Materials fleas of warm-blooded animals of West Kazakhstan region // Zoological Yearbook of Kazakhstan and Central Asia Selevinia. 2014. Vol. 22. P. 177-184 (in Russ.).

БАЛҚАШ ШӨЛ АЙМАҒЫНДАҒЫ ОБА ОШАҒЫНЫҢ БАЛҚАШ КӨЛІНІҢ ОҢТҮСТІК ЖАҒАЛАУЫНДА СҰР ЕГЕУҚҰЙРЫҚТЫҢ (*RATTUS NORVEGICUS*) ПАЙДА БОЛУЫ ЖАЙЫНДА

А. Ж. Жатқанбаев, С. М. Нысамбаева, Д. М. Жатқанбаева

ҚР БҒМ ҒК Зоология институты, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: Балқаш аймағы, шөлді, ошақ, оба, сұр егеуқұйрық (*Rattus norvegicus*), фотофиксация, фотоқақпан (Resonux PC900 Professional).

Аннотация. Мақалада Қазақстан Республикасының ең ірі мегаполисіндегі сұр егеуқұйрықтың (*Rattus norvegicus*) тұрақты популяциясының орнауынан бастап Алматы қаласы айналасындағы аймақтық экспансиясы туралы мәліметтер келтірілген. Resonux PC 900 Professional фотоқақпанының фотофиксациясы негізінде Балқаш шөл аймағындағы оба ошағының солтүстік-батыс өлкелік қиырында, Алматы облысы, Балқаш ауданы Қараой ауылын сұр егеуқұйрықтың мекендеуі туралы алғашқы дерек көрсетілді.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 59 – 62

**CLINICAL CASE OF MYASTHENIA
IN A PATIENT PRESENTING WITH RHEUMATIC FEVER****A. Ismailova, M. Mergenbayeva**

Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: janeka-2014@mail.ru

Key words: myasthenia gravis, rheumatic fever, an autoimmune process.**Abstracts:** The paper presents a clinical case observations of debut of generalized myasthenia gravis in patient with rheumatic fever. The features of clinical manifestations of myasthenia gravis are mentioned. It is assumed the important role of the preceding immunological disorders as a trigger in the debut of myasthenia gravis.

УДК 616.8(574)

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ДЕБЮТА МИАСТЕНИИ
НА ФОНЕ РЕВМАТИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ****А. Ж. Исмаилова, М. Т. Мергенбаева**

Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: миастения, ревматическая лихорадка, аутоиммунный процесс.**Аннотация.** В статье приведен клинический случай наблюдения дебют генерализованной формы миастении у больной с ревматической лихорадкой. Отмечены особенности клинических проявлений миастении. Предположена важная роль предшествующих иммунологических нарушений как пусковых механизмов в дебюте миастении.

Миастения – это тяжелое прогрессирующее заболевание, характеризующееся нарушением нервно-мышечной передачи и проявляющееся слабостью и патологической утомляемостью поперечнополосатых мышц. Первые описания миастении принадлежат Т. Willis (1672), S. Wilks (1877), Erd (1879), S. Goldflam (1893), а основной симптом миастении – патологическая мышечная утомляемость – был выявлен S. Goldflam (1893) и подтвержден F. Jolly (1895), который назвал это заболевание Myasthenia gravis pseudoparalitica. Благодаря исследованиям F. Jolly (1895), А. Я. Кожевникова, Г. И. Маркелова (1896), Н. R. Viets (1953), Б. М. Гехта (1965), Skrabanek (1974), Rowland (1978), Campbell и Bromwell (1990) миастения была выделена в отдельную нозологическую форму [1– 6]. Согласно распространенных в настоящее время эпидемиологических исследований, миастения является относительно редким заболеванием. Она диагностируется с частотой 0,5–5 случаев на 100 000 населения. При этом дебют миастении чаще всего приходится на третье-четвертое десятилетие жизни. Однако, несмотря на длительное изучение этой патологии, вопросы этиологии и патогенеза миастении остаются не до конца раскрытыми [2, 3, 5]. Анализ данных литературы, касающихся анамнеза заболевания, факторов, приводящих к его развитию, а также течения миастенического процесса показывает, что преобладающее большинство больных связывают дебют патологического процесса с перенесенной инфекцией (грипп, ангина), а также с различными предшествующими заболеваниями центральной нервной системы и патологией

сердечно-сосудистой системы. Многие пациенты указывают на развитие заболевания после перенесенных физических или психических перегрузок, стрессорных воздействий, а также на связь острого развития миастенических расстройств с приемом лекарственных препаратов [6].

Примером дебюта генерализованной миастении может служить следующая выписка из истории болезни. Больная Г., 54 года, поступила в отделение с жалобами на слабость и быструю утомляемость в мышцах нижней половины лица, верхних и нижних конечностей, затруднение пережевывания пищи и речи, скопление во рту вязкой слюны, невозможность держать голову, падение головы на грудь, слабость в руках и ногах, затруднение самообслуживания и ходьбы, снижение звучности голоса, затруднение глотания. Больная в течение недели, когда на фоне хорошего самочувствия появилась слабость жевательной мускулатуры, испытывала затруднение при жевании и разговоре, стало нарастать отвисание головы, при разговоре и во время приема пищи больная была вынуждена поддерживать голову. За 2 дня до госпитализации присоединилась слабость в руках и ногах. Все перечисленные симптомы усиливались при повторных движениях и во второй половине дня. В течение 5 лет больная страдает артериальной гипертензией с цифрами АД до 150/100 мм рт. ст. Считает себя больной с 2010 года, когда впервые появилась боли в области сердца, нехватки воздуха, обратилась к терапевту, при обследовании выявлен шум МК установлен диагноз: Ревматическая лихорадка, активная фаза, активность 2 степени. Возвратный ревмокардит. Митральный порок, с преобладанием недостаточности. НК1. ФК3. Волчаночный антикоагулянт – положительный. С тех пор наблюдается у ревматолога. Последнее стационарное лечение в городском ревматологическом центре в апреле 2015 года, с диагнозом: Повторная ревматическая лихорадка. Кардит. Недостаточность и стеноз митрального клапана, НКПА, ФКП. Легочная гипертензия. С января 2014 года принимает ГКС (метипред) 16 мг, далее по схеме. Последнее прием метипреде в мае месяце 2015 года. Регулярно получает бицилинопрофилактику.

При поступлении состояние средней тяжести. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки розовые, чистые. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Больная повышенного питания, правильного телосложения. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Частота дыхательных движений 18 в минуту. Тоны сердца приглушены, ритмичные. Частота сердечных сокращений 72 в минуту, АД 140/90 мм рт. ст. Живот мягкий, безболезненный, печень по краю реберной дуги. Стул, мочеиспускание не нарушены. Неврологический статус: больная в сознании, ориентирована, контактна. Менингеальных симптомов нет. Состояние зрачков D = S. Прямая реакция на свет правого глаза отсутствует. Слабость круговой мышц глаз с обеих сторон. Гипомимия. Назолалия, дисфагия, дисфония. Язык по средней линии. Дизартрия. Выраженная слабость мышц нижней части лица. Глоточный рефлекс живой. Диффузное умеренное снижение силы во всех группах мышц. Сухожильные рефлексы с рук и ног живые, D = S. Выражен симптом патологической мышечной утомляемости: при разговоре нарастает дизартрия. Слабость разгибательных мышц шеи, голова свисает, слабость мышц торса, симптом лестницы, при приподнимании с кровати, «утиная походка». Тетрапарез в конечностях до 3 баллов. Мышечный тонус снижен, сухожильные рефлексы с верхних и нижних конечностей торпидные, ахиллов рефлекс отсутствует. Патологических знаков нет. Чувствительных нарушений не выявлено. Координаторные пробы с интенцией, дисметрия. Функции тазовых органов контролирует. В пробе Ромберга неустойчива. МРТ головного мозга от 2015 года: МРТ-признаки дисциркуляторной энцефалопатии, церебрального атеросклероза с многочисленными, разнокалиберными сосудисто-дисметаболическими очагами лейкоэнцефалопатии в субкортикальных и перивентрикулярных отделах паренхимы белого вещества лобно-теменных долей полушарий мозга. (МР-признаки микроциркуляторных, транзиторных или метаболических нарушений с исходом в глиоз, в хронической фазе), умеренно-выраженный наружный конвекситальный гипотрофический гидроцефалии, хронической вертебробазиллярной недостаточности вследствие умеренной редукции кровотока по интракраниальному сегменту правой позвоночной артерии обусловленной ее гипоплазией с компенсаторным усилением интенсивности кровотока по левой позвоночной артерии. ЭНМГ от 25.05.2012 г. При проведении стимуляционной миографии низко- и высоко частотными стимулами регистрируется нарушение нейро-мышечной передачи по миостеническому типу, с положительной реакцией на введения АХЭ-препарата (галантамина гидрохлорид-нивалин - 7,5 мг). При исследовании мышц ноги игольчатым электродом данных за текущий процесс в исследованных мышцах не получено.

Спонтанная активность в обеих мышцах не регистрируется. Параметры полученных ПДЕ изменены по первично-мышечному типу. Клинический диагноз: Миастения, генерализованная форма, впервые выявленная, средней степени тяжести. ХРБС. Сочетанный митральный порок сердца с преобладанием недостаточности. ИБС. ПИКС. Артериальная гипертензия 2 ст. высокий риск. ФКЗ. Назначено лечение: калимин по 60 мг 4 раза в сутки. На фоне лечения состояние больной улучшилось, восстановилась речь, исчезла общая мышечная слабость и слабость в мышцах нижней части лица. Таким образом, диагностика миастении у описанной больной основывалась на появлении характерной мышечной слабости, положительном результате прозеринового пробы, стабильном улучшении состояния на фоне антихолинэстеразной терапии. В приведенном наблюдении заболевание дебютировало слабостью в жевательных мышцах с последующей генерализацией патологического процесса на мышцы верхних и нижних конечностей с максимально выраженной утомляемостью в вечернее время. При этом можно предположить, что двигательные расстройства миастенического характера развились на фоне длительно существующей ревматической лихорадки, о чем свидетельствуют острое начало и наибольшая выраженность клинической картины с первых дней заболевания. Клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови при поступлении показатели в пределах возрастной нормы. На ЭКГ – ритм регулярный с ЧСС 65 уд/мин, ЭОС отклонение влево. Блокада левой ножки пучка Гиса. Рубцовые изменения задней стенки. ЭхоКГ - аорта уплотнена, створки митрального клапана утолщены, деформированы. Дилатация левого предсердия. Гипертрофия обеих желудочков. Систолическая функция левого желудочка удовлетворительна. Диагноз ЭхоКГ: Недостаточность III ст., стеноз митрального клапана I ст. Легочная гипертензия I ст.

Исследования последних лет также доказали важную роль иммунологических нарушений и в патогенезе сердечно-сосудистой системы и системы крови [7, 8]. Этот вывод позволяет допустить, что дальнейшие клинико-инструментальные и иммунологические исследования с включением большего числа больных миастенией в сочетании с сердеч-но-сосудистыми и гематологическими заболеваниями помогут выяснить еще не решенные вопросы этиологии, патогенеза и лечения этого заболевания. Особенностью представленного наблюдения является сочетание миастении с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в патогенезе которых существенное значение имеют иммунологические нарушения. Так, примерно у 85% больных миастенией выявляются антитела к ацетилхолиновому рецептору постсинаптической мембраны нервно-мышечного соединения, появление которых связывают с врожденными иммунологическими расстройствами и нарушениями функции вилочковой железы [9,10]. Вместе с тем большинство авторов подчеркивают отсутствие корреляции между уровнем антител к ацетилхолиновым рецепторам и тяжестью клинических проявлений болезни, что вероятно указывает только на антигенную стимуляцию [11].

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Гехт Б.М. Синдромы патологической мышечной утомляемости. – М.: Медицина, 1974. – 200 с.
- [2] Гехт Б.М., Ильина Н.А. Нервно-мышечные болезни. – М.: Медицина, 1982. – 224 с.
- [3] Кузин М.И., Гехт Б.М. Миастения. – М.: Медицина, 1996. – 224 с.
- [4] Лобзин В.С., Сайкова Л.А., Полякова Л.А. Диагностика и лечение миастении. – Л.: Медицина, 1984. – 19 с.
- [5] Скрипниченко Д.Ф., Шевнюк М.М. Диагностика и лечение миастении // Врачебное дело. – 1983. – № 12. – С. 18-20.
- [6] Жулев Н.М., Кери А., Полякова Л.А. и др. Диагностика и лечение миастении // В кн.: Материалы IX Всероссийского съезда неврологов. – Ярославль, 2006. – 104 с.
- [7] Лайсек Р.П., Барчи Р.Л. Миастения / Пер. с англ. – М.: Медицина, 1984. – 272 с.
- [8] Гращенков Н.И. Миастенические расстройства. – М.: Медицина, 1965. – 235 с.
- [9] Евсеев В.А. Иммунологические механизмы развития миастении // Иммунология. – 1980. – 3. – С. 25–38.
- [10] Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001.
- [11] Жданов Г.Н. Клинические и иммунологические аспекты в дифференциальной диагностике, лечении и прогнозировании ишемического инсульта: Автореферат дис. ... д. м. н. – М., 2007.

REFERENCES

- [1] Geht B.M. Sindromy patologičeskoj myshečnoj utomljaemosti. M.: Medicina, 1974. 200 s.
- [2] Geht B.M., Il'ina N.A. Nervno-myshechnye bolezni. M.: Medicina, 1982. 224 s.
- [3] Kuzin M.I., Geht B.M. Myasthenja. M.: Medicina, 1996. 224 s.

- [4] Lobzin B.S., Sajkova L.A., Poljakova L.A. Diagnostika i lechenie myasthenii. L.: Medicina, **1984**. 19 s.
[5] Skripnichenko D.F., Shevnjuk M.M. Diagnostika i lechenie myasthenii. Vrachebnoe delo **1983**. № 12. S. 18-20.
[6] Zhulev N.M., Keri A., Poljakova L.A. i dr. Diagnostika i lechenie myasthenii. V kn.: Materialy IX Vserossijskogo s'ezda nevrologov. Jaroslavl'; **2006**. 104 s.
[7] Lajsek R.P., Barchi R.L. Myasthenja. Per. s angl. M.: Medicina, **1984**. 272 s.
[8] Grashhenkov N.I. Myasthenicheskie rasstrojstva. M.: Medicina, **1965**. 235 s.
[9] Evseev V.A. Immunologicheskie mehanizmy razvitija myasthenia. Immunologija. 1980. 3. s. 25-38.
[10] Gusev E.I., Skvorcova V.I. Ishemija golovnogogo mozga. M.: Medicina, **2001**.
[11] Zhdanov G.N. Klinicheskie i immunologicheskie aspekty v differencial'noj diagnostike, lechenii i prognozirovanii ishemicheskogo insul'ta: avtoreferat dis. ... d. m. n. M., 2007.

РЕВМАТИЗМДІК БЕЗГЕК АЯСЫНДА МИАСТЕНИЯ ДЕБЮТІНІҢ КЛИНИКАЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

А. Ж. Исмаилова, М. Т. Мергенбаева

Қазақ медициналық үздіксіз білім беру университеті, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: миастения, ревматизмдік безгек, аутоиммунды үрдіс.

Аннотация. Мақалада ревматизмдік безгек аясында миастения дебютінің клиникалық жағдайы сипатталған. Миастенияның клиникалық көрінісінің ерекшеліктері аталған. Миастения дебютіндегі иммунологиялық бұзылыстар триггерлік механизм ретінде қарастырылған.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 62 – 67

RESEARCH OF ECOLOGICAL STATE OF RIVER CHANNELS IN THE ZONE OF THE SOUTH-KAZAKHSTAN REGION

S. B. Kaldybekova, A. Z. Mametova, R. E. Aitkulova, Sh. R. Elemanova, A. A. Ospanova

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

Key words: rivers, heavy metals, plants, biochemical processes, morphological structure, degree of contamination, indication.

Abstract. The article discusses the influence of ions of heavy metals and morphological changes in various plants. It was determined the sensitivity on azolla ions (*A. caroliniana* Willd.) and Boden grass (*V. anagallis - aquatica* L.). For the common reed (*Ph. Australis communis* Trin.) and *T. latifolia* organic pollution is very high, and the dynamics of biochemical processes of habitat for plants is intensive optimum level of water movement.

The results of the study showed that the effects of heavy metals and their ions depending on the properties differ and reveal the morphological features of various aquatic plants. There were investigated Morphological changes of plants and studied metal ions are located in the following sequence by speed of changes: copper → lead → cadmium.

The investigated experiments of plants were determined that copper ion (Cu²⁺) 3.5 mg/l concentrations were clearly observed morphological changes. Unfavorable for the habitation of plants is the size of limit maximum concentration of copper ions (Cu²⁺) of 9.5 mg/l). On the fourth day of the experiments for the normal functioning of plants, vital signs were disturbed. This is 9.5 times higher than MPC levels to the aquatic environment approved and used for purposes of fisheries

ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫНЫҢ АЙМАҒЫНДАҒЫ ӨЗЕН АРНАЛАРЫНЫҢ ЭКОЛОГИЯЛЫҚ АХУАЛЫН ЗЕРТТЕУ

С. Б. Қалдыбекова, А. З. Маметова, Р. Э. Айтқулова, Ж. Р. Елеманова, А. А. Оспанова

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

Түйін сөздер: өзендер, ауыр металдар, өсімдіктер, биохимиялық процестер, морфологиялық құрылысы, ластану дәрежесі, индикациялау.

Аннотация. Мақалада ауыр металл иондарының улы әсері, әртүрлі су өсімдіктерінде ерекше морфологиялық өзгерістері қарастырылады. Бұл иондарға өте сезімтал болып каролин азолласы (*A. caroliniana* Willd.) мен бұлақ бөденешөбі (*V. anagallis -aquatica* L.) анықталды. Кәдімгі қамыс (*Ph. communis australis* Trin.) пен май қоға (*T. latifolia*) өсімдіктері үшін органикалық ластану дәрежесі жоғарғы және биохимиялық үрдістердің жүру динамикасы қарқынды су ортасы тіршілік етуіне оптималды орта болып табылады.

Зерттеу нәтижелері ауыр металл иондары улы қасиетіне қарай ерекшелігі және олардың әсерін, су өсімдіктерінің әртүрлі морфологиялық белгілері айқындайтын көрсетеді. Өсімдіктердің морфологиялық құрылысын өзгерістерге ұшырату жылдамдығы бойынша зерттелген металл иондары мынадай ретпен орналасты: мыс → қорғасын → кадмий.

Жүргізілген тәжірибелерде зерттелген өсімдіктерде мыс иондарының (Cu^{2+}) 3,5 мг/л концентрациясында айқын морфологиялық өзгерістер байқалды. Өсімдіктердің тіршілік етуіне қолайсыз, ең жоғары шектік концентрациялық мөлшер болып мыс иондарының (Cu^{2+}) 9,5 мг/л анықталды. Бұл тәжірибелердің төртінші тәулігінде өсімдіктердің қалыпты тіршілік белгілері бұзылды. Бұл балық шаруашылығы мақсатында пайдаланылатын су ортасы үшін бекітілген ШМК деңгейінен 9,5 есе артық мөлшер болып табылады.

Кіріспе. ОҚО еліміздегі халқы ең тығыз орналасқан, өндіріс орындары дамыған аймақтардың бірі. Облыс көлемінде полиметалл өнімдерін өндіру, мұнай өңдеу, кен байыту, химиялық фармацевтика және жеңіл өнеркәсіп салаларының кәсіби мекемелері орналасқан. Бұл ірі мекемелер облыстағы елді мекендердің маңында орналасқандықтан, олардың шоғырлануы техногендік аймақтың қалыптасуына себеп болып отыр [1, 2]. Қоршаған ортаның экологиялық жағдайының нашарлауына урбанизациялық үрдістің артуы да өз септігін тигізуде. Елді мекендердің көлемінің артуы, құрылыс жұмыстарының қарқындауы және автокөлік санының шектен тыс көбеюі ауадағы, судағы және топырақтағы зиянды қоспалардың үлесінің артуын үдетуде. Осы тұрғыда, ОҚО-ның су көздерінің экологиялық жағдайын бағалау, басты ластаушы көздерді анықтау үшін, гидромакрофиттік өсімдіктер қауымдастығының түрлік құрамы мен олардың су ортасындағы экологиялық маңызын зерттеу өзекті мәселелер болып табылады [3].

Зерттеудің мақсаты. Оңтүстік Қазақстан облысының (ОҚО) Арыс өзені арналарының экологиялық жағдайын гидромакрофиттік өсімдіктер арқылы индикациялау және кешенді ластанған су ортасын биологиялық жолмен тазарту әдістемелерін ғылыми негіздеу.

Зерттеу нысандары. Су көздерінің экологиялық жағдайына техногендік факторлардың әсерін және су өсімдіктерінің индикаторлық қасиеттерін анықтау үшін, зерттеуге облыстың өндірісі дамыған, техногендік жүктемелері жоғары аудандардағы және тау бөктерінде орналасқан 11 өзендер мен 6 табиғи су қоймалары, оның ішінде Шымкент қаласының коммуналды-шайын суларын қабылдайтын Бөрдар су қоймасы және техногенді ластанған, өндіріс орындарының пайдаланылған шыққан суларды буландыруға арналған Кеңдала су қоймасы зерттелді (кесте).

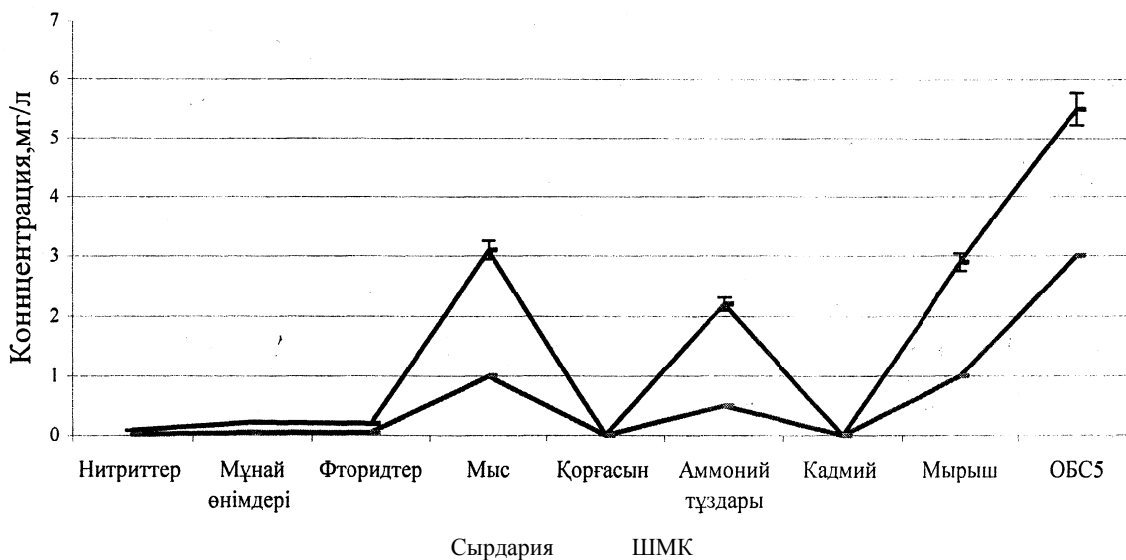
Судың химиялық құрамын анықтауға, аталған су көздерінен алынған су сынамалары пайдаланылды. Зертханалық тәжірибелерде ауыр металл иондары қорғасын, мыс, мырыш және кадмий элементтерінің суда еритін ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{SO}_4)$, $\text{Zn}(\text{SO}_4)$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) нитраттық және сульфаттық тұздары пайдаланылды.

Су құрамындағы ластаушы заттардың мөлшері ауыз су және коммуналды-тұрмыстық шаруашылыққа пайдалануға жарамды су құрамы үшін анықталған шектік мүмкіндік концентрациясымен (ПМК) салыстырмалы түрде зерттелді.

Зерттеуге алынған су көздері және олардың ерекше сипаттамалары

| Р/с | Су көздерінің түрі мен атауы | Ерекше сипаттамалары |
|-----|------------------------------|---|
| 1 | Арыс өзені | Тау бөктерінен төмен қарай ағатын 85 біріншілік және екіншілік өзендердің суын қабылдайды. Сырдария өзенінің басты саласы болып саналады, зерттелген өзендердің біршама-сы Арыс өзенін қоректендіреді. ОҚО өтетін өзендердің ішінде Сырдария өзенінен кейін көлемі мен ұзындығы жағынан екінші орын алады. Ұзындығы 378 км. |
| 2 | Бадам өзені | Ұзындығы 145 км шамасында, минералды қоспалармен ластанған өзен. Төлеби ауданы мен Шымкент қаласынан өтіп Арыс өзеніне құяды. |
| 3 | Сайрамсу өзені | Алатаудың Сайрам шыңы тұсынан бастау алады, Шымкент қаласының маңында Бадам өзеніне құяды. Суы таза өзендердің бірі. Ұзындығы 76 км. |
| 4 | Балды-брек өзені | Төлеби ауданының Дарбаза таулы жотасының тұсындағы тау сілемдерінен бастау алады. Суы таза өзендердің бірі, Тасарық елді мекенінің тұсында Сайрамсу өзеніне құяды. Ұзындығы 48 км. |
| 5 | Қасқасу өзені | Алатаудың бөктерінен бастау алады, Төлеби ауданының Тасарық елді мекенінің маңында Сайрамсу өзеніне құяды. Ұзындығы 26 км. |
| 6 | Қошқар-Ата өзені | Шымкент қаласының ортасындағы шоғырлы бұлақтардан бастау алып қала сыртында Бадам өзеніне құяды. Органикалық қоспалармен жоғары дәрежеде ластанған өзен. Ұзындығы 12 км. |
| 7 | Машат өзені | Арыс өзеніне құяды, арна жағалай орналасқан саяжайлар мен демалыс орындары басты ластаушы нысандар. Суының ластану дәрежесі антропогендік факторлардың әсерінен жылдан-жылға артып келе жатқан өзендердің бірегейі болып саналады. Ұзындығы 60 км. |

Жеке түрлердің аталған техногендік факторларға төзімділігі мен бейімделу қабілеттерін толық зерттеу үшін, зертханалық тәжірибелерде, ауыр металл иондарының артық мөлшеріне ерекше жауаптық іс-әрекет арқылы индикациялық айқын белгі көрсететін өсімдік түрлері және олардан құралған доминантты топтар зерделенді. Оңтүстік Қазақстан облысында кеңінен таралған макрофиттік су өсімдіктері пайдаланылды.



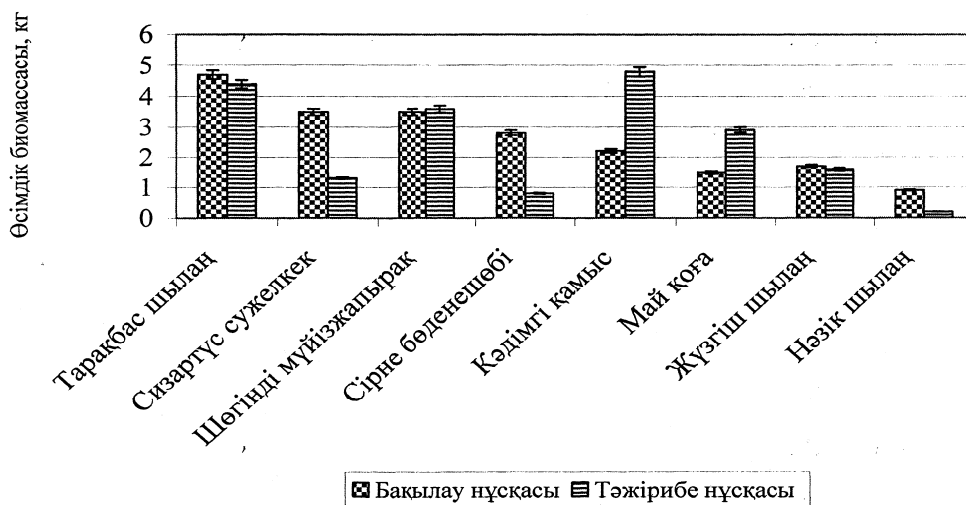
1-сурет – ОҚО өзендері арнасындағы су ортасының химиялық құрамы

Өзеннің Оңтүстік Қазақстан облысының аймағындағы арнасы құмды, топырақты, шөлейтті географиялық аймақ ретінде сипаттауға болады. Өзен жағалауында жайылыңқы, орман құрылғысы орныққан. Көктемгі айлардағы су тасу кезінде, су өзен арнасынан шығып, өзен жағалауында шағын тоғандар пайда болады. Құмдақ жағалау су өсімдіктерінің өсуіне қолайсыз. Сонымен қатар, өсімдіктер қауымдастығының тұрақты орнығуына, арнадағы су деңгейінің құбылмалылығы мен ағым жылдамдығы басты кедергі болып табылады. Сондықтан, су ортасын ластаушы заттардан тазартуда, жоғары сатыдағы су өсімдіктер қауымдастығының үлесі айтарлықтай емес [4].

Зерттеу нәтижелерінде ластанудың үш еселік ШМК дәрежесіне дейін артуы, зерттелген өсімдік түрлеріне айтарлықтай әсер етпеді. Барлық өсімдік түрлерінде, табиғи жағдайдағы өзгерістерден тыс белгілердің пайда болуы тіркелмеді. Сірне бөденешөбі (*V. beccabunga* L.), сизартүс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.), сулық жалбыз (*M. aquata* L.) және хара балдырлар (*Ch. vulgaris* L.) үшін 5 және 10 ШМК мөлшері улық әсер ететін шама болып табылды. Тәжірибе соңында, бұл өсімдіктердің тіршілігі толығымен жойылуы, аталған концентрациялық деңгей өсімдік тіршілігі үшін қолайсыз орта екені анықталды. Концентрациялық градиент бағытында өсімдіктердің тіршілік қабілетін жойылу қасиеттері бойынша, келесідей ретпен орналастыруға болады: каролин азолласы (*A. caroliniana* Willd.) – кәдімгі хара балдыры (*Ch. vulgaris* L.) – бұлақ бөденешөбі (*V. anagallis-aquatica* L.) – сірне бөденешөбі (*V. beccabunga* L.), сизартүс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.) – сулық жалбыз (*M. aquata* L.). Минералды қосылыстардың мөлшері 10ШМК болғанда сірне бөденешөбінде (*V. beccabunga* L.) морфо-логиялық өзгерістер байқалды. Өсімдіктің биомассасы, тұқым өнімділігі, жамылғысының көлемі, сабының ұзындығы бақылаудағы өсімдікпен салыстырғанда 70 пайызға дейін аз шамада тіркелді.

Тарақбас шылаң (*P. pectinatus* L.), жіңішке шылаң (*P. filiformis* Pers.) және шөгінді мүйізжапырақ (*C. demersum* L.) өсімдіктеріне жүргізілген тәжірибелерде мұндай өзгерістер байқалмады. Өсімдіктердің вегетативтік мүшелерінің бұзылуы мен ыдырау белгілері сияқты морфологиялық өзгерістері тіркелмеді. Бұл, аталған өсімдіктердің ластаушы факторлардың әсеріне реакциялық жауаптарының баяулығымен және мұндай ортаға төзімділігімен түсіндіріледі.

Су ортасының органикалық қосылыстармен ластануына, өсімдік түрлерінің морфологиялық көрсеткіштерінің өзгерістерін зерттеу нәтижесінде, шылаң түрлері (*Potamogetonaceae* Spp.) сезімтал емес екендігін көрсетті. Зерттеу нәтижесінде, морфометрикалық ауытқулар статистикалық өңдеуде анықталмады. Осындай заңдылық шөгінді мүйізжапырақ (*C. demersum* L.) өсімдігіне де тән екендігі дәлелденді, Керісінше, сизартүс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.), сірне бөденешөбі (*V. beccabunga* L.), кәдімгі қамыс (*Ph. communis australis* Trin.) пен май қоға (*T. latifolia* L.) өсімдіктері органикалық ластаушы су ортасында айқын реакциялық белгілер көрсетті. Сизартүс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.), сірне бөденешөбі (*V. beccabunga* L.) өсімдіктерінде морфометрикалық белгілері, өсімдіктердің тіршілік белгілерінің тежелуімен айқындалды. Сизартүс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.) өсімдігінің барлық морфометрикалық көрсеткіштері тәжірибе нұсқасында 2,9 есеге, ал сірне бөденешөбінде (*V. beccabunga* L.) бұл көрсеткіштер 2,6 есеге аз тіркелді. Кәдімгі қамыс (*Ph. communis australis* Trin.) пен май қоға (*T. latifolia* L.) өсімдіктерінің морфометрикалық өлшемдері 2-3 есеге артты. Бұл реакциялық белгілер өсімдік биомассасы мен тұтас өсімдік жамылғысы арқылы айқын көрінеді (2-сурет).



2-сурет – Су ортасының органикалық ластануына өсімдік түрлерінің биомассасының бақылаумен салыстырмалы түрдегі көрсеткіштері

Сонымен қатар, органикалық ластанған су ортасына тән ерекше белгілер ретінде, өсімдіктердің сыртқы морфологиялық өзгерісін, сабақтың жіңішкеруі мен жапырақ тақташаларының майдалануын атауға болады. Сірне бөденешөбінің (*V. beccabunga* L.) жіңішке сабақтары бір-бірімен шатасып, ажырауы қиын биомассаға айналады. Жапырақ тақташаларының ені $1,2 \pm 0,01$ см аспайды. Ал сизар түс сужелкек (*S. sizaroideum* DC.) басқа өсімдік жамылғысының арасында бірен - саран, өте жіңішке сабақты және майда жапырақты күйде ғана кездеседі. Органикалық ластанған су ортасындағы өсімдіктердің морфометрикалық параметрлері, қалыпты жағдайдағы өсімдіктердің көрсеткіштерімен салыстырғанда 3-4 есе кем екендігі байқалды.

Өсу, даму үрдістерінің тежелуі мен биомассалық көрсеткіштердің азаюы тіркелмеді. Кәдімгі қамыс (*Ph. communis australis* Trin.), май қоға (*T. latifolia* L.) өсімдіктерінде жүргізілген статистикалық зерттеулерде, бұл өсімдіктердің морфометрикалық көрсеткіштері жоғары шамада тіркелді. Өсімдіктердің биомассаларының мөлшері 2,5 есе артты. Зерттеу нәтижелерінің сараптамасында, минералды ластану дәрежесі жоғары су ортасындағы доминантты өсімдіктер қауымдастығын құрайтын жеке түрлердің бейімделушілік қасиеттеріне байланысты, ерекше морфологиялық өзгерістер қалыптасатыны анықталды. Арыс өзенінің суының ластану дәрежелерінің артуы, Сырдария өзенінің су сапасына айтарлықтай әсер етеді.

Қорытынды. Сонымен ауыр металл иондарының улық әсері, әртүрлі су өсімдіктерінде ерекше морфологиялық өзгерістер туғызады. Бұл иондарға өте сезімтал болып каролин азолласы (*A. caroliniana* Willd.) мен бұлақ бөдене шөбі (*V. anagallis-aquatica* L.) анықталды. Су ортасының ауыр металл иондары мен органикалық ластануы тарақбас шылаң (*P. pectinatus* L.), нәзік шылаи (*T. minima* Funek – Норре.), шөгінді мүйізжапырақ (*C. demersum* L.) және жүзгіш шылаң (*P. natans* L.) өсімдіктерінде айтарлықтай морфологиялық өзгерістер байқалмады. Кәдімгі қамыс (*Ph. communis australis* Trin.) пен май қоға (*T. latifolia*) өсімдіктері үшін органикалық ластану дәрежесі жоғары жіне биохимиялық үрдістердің жүру динамикасы қарқынды су ортасы тіршілік етуіне оптималды орта болып табылады.

Зерттеу нәтижелері ауыр металл иондары улық қасиетіне қарай ерекшелетінін және олардың әсерін, су өсімдіктерінің әртүрлі морфологиялық белгілері айқындайтынын көрсетеді. Өсімдіктердің морфологиялық құрылысын өзгерістерге ұшырату жылдамдығы бойынша, зерттелген металл иондары мынадай ретпен орналасты: мыс → қорғасын → кадмий.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Бакалец Д.В. и др. Автоматизация процессов очистки сточных вод гальванохимических производств // Автоматизация в промышленности. – 2004. – № 1. – С. 11-14.
- [2] Зайнуллин Х.Н. Снижение техногенного воздействия на водные объекты путем обезвреживания и утилизации промышленных и бытовых отходов // Ресурсосберегающие технологии: Экспресс-информация. – 2004. – № 15. – С. 3-19.
- [3] Зубарева Г.И., Гуринович А.В., Дегтев М.И. Способы очистки сточных вод от катионов тяжелых металлов // Экология и промышленность России. – 2008. – № 1. – С. 18-20.
- [4] Зыкова И.В., Лысенко И.В., Панов В.П. Статика адсорбции ионов кобальта из водных сред керамической крошкой // Известия вузов. Химия и химическая технология, – 2004. – Т. 47, вып. 7. – С. 22-24.

REFERENCES

- [1] Bakalec D.V., et al. Avtomatizacija processov ochistki stochnyh vod gal'vanohimicheskikh proizvodstv // Avtomatizacija v promyshlennosti. 2004. N 1. P. 11-14.
- [2] Zajnullin H.N. Snizhenie tehnogennogo vozdejstvija na vodnye ob"ekty putem obezvrezhivaniya i utilizacii promyshlennyh i bytovyh othodov // Resursosberegajushhie tehnologii: Jekspress-informacija. 2004. N 15. P. 3-19.
- [3] Zubareva G.I., Gurinovich A.V., Degtev M.I. Sposoby ochistki stochnyh vod ot kationov tjazhelyh metallov // Jekologija i promyshlennost' Rossii. 2008. N 1. P. 18-20.
- [4] Zyкова I.V., Lysenko I.V., Panov V.P. Statika adsorbicii ionov kobal'ta iz vodnyh sred keramicheskoy kroshkoj // Izvestija vuzov. Himija i himicheskaja tehnologija. 2004. Vol. 47, N 7. P. 22-24.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЯ РЕЧНЫХ КАНАЛОВ
В ЗОНЕ ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ****С. Б. Калдыбекова, А. З. Маметова, Р. Э. Айткулова, Ж. Р. Елеманова, А. А. Оспанова**

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

Ключевые слова: реки, тяжелые металлы, растения, биохимические процессы, морфологическое строение, степень загрязнения, индикация.

Аннотация. В статье рассматриваются влияние ионов тяжелых металлов и морфологические изменения в различных растениях. Определена чувствительность к ионам азоллы (*A. caroliniana* Willd.) и к траве бодене (*V. anagallis-aquatica* L.). А для тростника обыкновенного (*Ph. australis communis* Trin.) и *T. latifolia* органическое загрязнение очень высокое, и динамика биохимических процессов среды обитания для растений является интенсивной, уровень движения воды оптимальный.

Результаты исследования показали, что влияние тяжелых металлов и их ионов в зависимости от свойств отличается и раскрывает морфологические признаки различных водных растений. Исследованные морфологические изменения растений и исследуемые ионы металлов расположились в следующей последовательности по скорости изменения: мед → свинец → кадмий.

В результате проведенных экспериментов в исследованных растениях определили, что в ионах меди (Cu^{2+}) 3,5 мг/л концентрациях четко наблюдались морфологические изменения. Неблагоприятным для обитания растений является размер предельных максимальных концентрационных ионов меди (Cu^{2+}) 9,5 мг/л). В четвертый день опытов для нормальной жизнедеятельности растений были нарушены жизненные признаки. Это в 9,5 раза больше уровня ПДК для водной среды, утвержденного и используемых в целях рыбного хозяйства.

*Поступила 04.05.2016 г.***NEWS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 67 – 72

**DETERMINATION OF THE OPTIMUM TEMPERATURE
AND DURATION OF HEAT PROCESSING
ON THE BASIS OF LACTO-VEGETARIAN PRODUCT****S. Sh. Lesbekova, D. E. Kudasova, G. M. Kaldybekova, T. Abdieva, A. Serikbai**

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

E-mail: Dariha_uko@mail.ru

Key words: probiotic microorganisms, oatmeal, foodstuff, biological products, food products, dairy and vegetable.

Abstract. Good nutrition is one of the main conditions and the basis for the life and health of children and adolescents and to prolong life. The most widely used in food probiotic properties, it fully complies with the established qualities of multicomponent combined lacto-vegetarian products.

In literature data it is shown that in the diet of school-age children there is the shortcomings of the modern diet. In this regard, the relevance of this work is the study and design of the processing of oats with milk-vegetable biological products and their use in the diet of school children.

Unfavourable environmental conditions significantly affect the human body. Improving the health of the population, the inclusion occurs through the diet treatment-and-prophylactic food. Currently due to the deterioration of the environment, it is very difficult to ensure an optimal size of traditional foods and essential nutrients for the human body. Therefore, it is recommended the manufacturing of products which influence the growth and beneficial to the human body, biomedical special food.

СҮТТІ-ӨСІМДІК НЕГІЗІНДЕГІ ӨНІМНІҢ ОПТИМАЛДЫ ТЕМПЕРАТУРАСЫН ЖӘНЕ ЖЫЛУМЕН ӨНДЕУ ҰЗАҚТЫҒЫН АНЫҚТАУ

С. Ж. Лесбекова, Д. Е. Құдасова, Г. М. Қалдыбекова, Т. Абдиева, А. Серікбай

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

Түйін сөздер: пробиотикалық микроағзалар, сұлы жармасы, тамақ өнімдері, биологиялық өнім, азық-түлік, сүтті-өсімдік.

Аннотация. Толық құрамды тамақтану балалардың және жасөспірімдердің денсаулықтарына және өмірінің ұзаруына қажетті, басты шарттарының бірі болып табылады. Аса кеңінен сәйкес келетін толық қалыптасқан тағамға пробиотикалық қасиетке ие, көп компонентті комбинирленген сүтті-өсімдік өнімі ие.

Көптеген әдебиеттегі мәліметтер көрсеткендей, қазіргі заманның мектеп жасындағы балалардың тағамында көптеген жетіспеушіліктер бар. Осыған байланысты, жұмыс өзектілігі жаңа сұлы жармасы бар сүтті-өсімдік биоөнімін өндеуін зерттеп жобалау және мектеп жасындағы балалардың тағамдарына қосу.

Қоршаған ортаның жағымсыз шарттары адам ағзасына айтарлықтай әсер етеді. Халықтың денсаулығын жақсарту тағамдану рационына емдік және профилактикалық азық-түліктерді қосу арқылы жүреді. Қазіргі таңда қоршаған орта жағдайы нашарлауына байланысты, адам организмін дәстүрлі азық-түлік өнімдерінің оңтайлы қажетті қоректі заттар мөлшерімен қамтамасыз ету өте қиын. Сондықтан адам организміне пайдалы медико-биологиялық әсер ететін арнайы азық-түлік өнімдерін өндіруді мақсат ету ұсынылуда.

Кіріспе. Биологиялық өнім (ары қарай биоөнім) – бұл ашытқы микроағзаларын қолдана отырып, ашыту процесінен кейін пробиотикалық микроағзалар тірі болып қалатындай етіп, сүтті қайта өңдейтін өнім. Пробиотикалық микроағзаларымен байытылған, өнімдерге арналған бифидобактериялардың және пробиотик микроағзаларының концентрациясы $1 \times 10(6)$ КОЕ құрау керек [1, 2].

Пробиотикалық микроағзалар – тірі патогенді емес және улы емес микроағзалар.

Пробиотиктер – тамақ құрамындағы заттар, олар адамның ішек микрофлорасының өсуіне және қорғаныш өлдерінің биологиялық белсенділігін бір қалыпта ұстап тұруға қабілетті.

Пробиотиктер ішектің шіру бактерияларының өсуін тежетеді және бифидобактериялардың және лактобацилдердің өсуін қарқындатады; ішек микрофлорасына өмірлік басты минералдарды (Ca, Mg, Zn), сонымен қатар дәрумендердің синтезін және ұшпалы май қышқылдарын сіңіруді қалыптандырады; бауырдың қызмет ету жұмысына аса қолайлы жағдай тудырады және зат алмасуын қалыптандырады; ішекте тамақ компоненттерінің сіңіруін жақсартады, осыған байланысты патогенді микроағзалардың енуінен қорғайды [3, 4].

Зерттеу әдістері: зерттеу жұмысында азықтағы гигроскопиялық және жалпы суды анықтау, жалпы азот және шикі протеин мөлшерін Кьелдаль әдісі бойынша анықтау, май мөлшерін қалыпты әдістемемен ұшқыш ерітінділермен кептірілген аспадан майды бөліп алуға негізделген Сокслет әдісімен анықтайды, күл мөлшерін жылдам әдіспен магний ацетатын қолданып анықтадық.

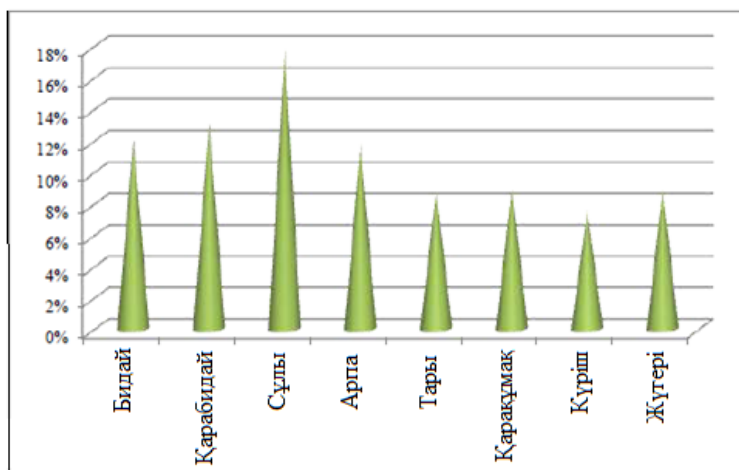
Тәжірибе нәтижелері және оларға талдау жасау

Қазіргі уақытта өсімдік және сүтті ингредиенттерді қолданып, тағамдардың арнайы өнімдерін өндеуде, табиғи әдіспен өнімді баға жетпес микронутриенттерімен байытады, едәуір мөлшерде оның органолептикалық көрсеткішін жоғарлатады.

Осы сүт өніміндегі пробиотиктер қасиетімен және сұлу өнімінің талшықтарының пребиотикалық қасиеттерін ескере отырып осы екі өнімді қосып, адам ағзасына пайдалы биоөнім алуды қарастырамыз.

Тамақ өнімінің талшықтары аса кеңінен қолданылатын пребиотиктер қатарына жатқызылады. Тамақ өнімінің талшықтары – бұл адам ағзасы сіңіре алмайтын көмірсулар мен әртүрлі қасиеттерге ие компонент. Тамақ өнімінің талшықтары функционалды тамақ ингредиенттеріне жатқызылады, ас қорытатын ферменттер әрекеттеріне зақым келтірмейді, адамның бір немесе бірнеше физиологиялық функциясына жағымды әсер ететін қабілетке ие.

1-сурет – Астық дәндерінде тамақ өнімінің талшықтарының мөлшері



Тамақ өнімінің талшықтарының көзі ретінде өсімдік шығу текті өнімдер болып табылады, олардың максималды мөлшері астық дақылдары: бидай, қарабидай, сұлы, арпа, тары, қарақұмақ, күріш, жүгері. Астық дақылдарында тамақ өнімінің талшық мөлшерінің салыстырмалы талдауы диаграмма түрінде көрсетілген (1-сурет).

Сүтті қышқыл өнімдерін тамақ өнімінің талшығымен байыту басты физиологиялық мәнге ие. Өнімде пробиотик пен пребиотикті бірге қолдану синбиотикалық сүтті қышқыл өнімін құруға мүмкіндік береді. Пробиотикалық культурасы көптеген жағдайда сүтті қышқыл өнімдерін дайындайтын ашытқыларында мөлшері болуына байланысты, синбиотикалық өнімдерді тура осы категорияда қолдану аса негізделген.

Қазіргі уақытта арнайы қоректену өнімін өндеуде өсімдік және сүтті ингредиенттерді қолдану арқылы табиғи әдіспен өнімді ауыстырылмайтын микронутриенттерді байытуға мүмкіндік береді, едәуір мөлшерде оның органиолептикалық көрсеткішін жоғарлатады, соңғы өнімнің амин қышқылдарын қалыптандыру мәселесін шешеді [5, 6].

Жоғарыда айтылып кеткен мәліметтерді ескере отырып, балалардың қоректенудегі биөнімінің органиолептикалық көрсеткішін жоғарлату үшін өсімдік компонентті ретінде сұлы жармасы таңдалып алынды.

Сұлы жармасы – бұрыннан келе жатқан өнім, ол алдын-ала арнайы өңделген сұлы дәннің ұсақтау арқылы алынады, мұнын нәтижесінде крахмалдың гидролизі жүреді. Жарма балалардың дәстүрлі қоректену өнімі. Сұлы жармасы бағалы химиялық құрамға ие және оның мөлшерінде E, PP және B топтарындағы дәрумендер бар, сонымен қатар макро-және микроэлементтерге ие: калий, кальций, фосфор, магний, натрий, темір, марганец. Сұлы жармасында тамақ өнімінің талшықтарының мөлшері басқа астық дәндерінің арасында максималды 17,8% құрайды (2-сурет). Сұлы жармасының сапалық сипаттамасының көрсеткіші кестеде көрсетілген.

Сүтті-өсімдік өнімін өндіруде басты технологиялық мәні бұл өсімдік компоненттінің микробиологиялық көрсеткіші. Сұлы жармасының микробиологиялық көрсеткішке сәйкес келетінін СанПиН 2.3.2.1078-2001 талаптарымен зерттелді.

2-сурет – Сұлы жармасы

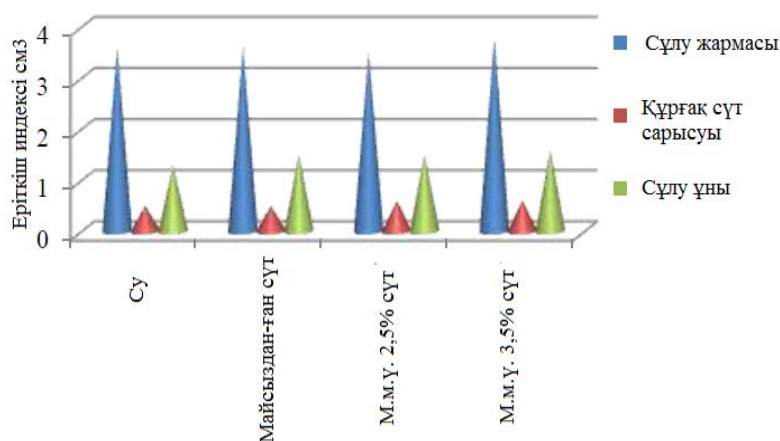


1-кесте – Сұлы жармасының микробиологиялық көрсеткіші

| Микробиологиялық көрсеткіштер | Мәні | |
|---|--------------------------------|-------------------------|
| | СанПиН 2.3.2.1078-2001 бойынша | Зерттеліп жатқан үлгіде |
| КМАФАнМ, КОЕ/г, артық емес | $1 \cdot 10^4$ | $1 \cdot 10^2$ |
| БГКП (коли-формы), бір грамда анықталғаны | 1,0 | 0,1 |
| <i>S. aureus</i> , бір грамда анықталғаны | 1,0 | Анықталмады |
| Патогенді, сонын ішінде сальмонелла, бір грамда анықталғаны | 25 | Анықталмады |
| Зең саңырауқұлақтары, КОЕ/г, артық емес | 50 | Анықталмады |
| Ашытқылар, КОЕ/г, артық емес | 10 | Анықталмады |

Осылайша, зерттеліп жатқан сұлы талқаны толығымен СанПиН 2.3.2.1078-2001 талаптарына сәйкес келеді.

Зерттеу жұмысының екінші бөлімі сұлы талқыны, сұлы ұны, құрғақ сүт сарысуының майсыздандырылған сүтте, майдың массалық үлесі 2,5%, 3,2%-ды сүтте және суда ерігіштігі зерттелді. Зерттеу нәтижелері 3-ші суретте көрсетілген.



3-сурет – Сүтті және сүтті емес компоненттерінің сүтті-өсімдік негізіндегі әртүрлі орталарда еріткіш индексі

Жарма ұнға қарағанда қоректілігі және тамақ талшықтарының мөлшері жоғары, өйткені онда дәннің барлық фракциялары сақталады, ал сұлы ұнында қоректік қабығы сыдырылған фракциялары қалдықтарда қалып қояды. Жарманы өндіру әдісі сұлу дәндерін тереңдетілген гидротермиялық өңдеуге негізделген және оны тамаққа қосымша жылумен өңдемей-ақ қолдануға болады. Жарма дайындау технологиясында дәндердің ақуызы өзгерістерге ұшырайды, денатурация процесі жүреді, нәтижесінде жарманың балауыз түзу қабілетінен айырылады. Сұлу ұнымен салыстырғанда сұлу жармасының органолептикалық көрсеткіші жоғары және ұнның дәмі болмайды.

Әртүрлі аурулардың алдын алу үшін, өсімдік және жануарлардан алынатын биологиялық белсенді қоспаларды және табиғи тамақ шикізатын қолдана отырып, емдік-профилактикалық өнімді құру қажеттілігі туындап тұр. Биологиялық белсенді заттарды ең алдымен жаппай қолданатын өнімге, атап айтқанда жас балаларға және ересек адамдар күнделікті қолданатын тағамға пайдалану керек, оларға ең бастысы сүтті өнімдер жатады.

Осылайша, сұлу жармасы мен сүт негізіндегі өнімді күнделікті адам ағзасын қоршаған ортаның зиянды әсерлерінен қорғауға қажетті заттармен байытып отырады.

2-кесте – Зерттелетін үгілердің химиялық құрамы

| Үлгі | Құрғақ заттардың массалық үлесі, % | Ақуыздың массалық үлесі, % | Майдың массалық үлесі, % | Көмірсулардың массалық үлесі, % |
|--------------------|------------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Сүт | 36,03 | 14,23 | 10,0 | 11,8 |
| Сұлу жармасы | 32,43 | 12 | 6,0 | 6,17 |
| Сүт + сұлу жармасы | 34,23 | 18,30 | 15,0 | 9,93 |

Тамақ құндылығын жоғарлату мақсатында біз, сүтке сұлу жармасын қостық. Бұл жерде сұлу жармасы арқылы алынған сүтті-өсімдік өнімінің құрамындағы ақуыз мөлшерін жоғарлағаны көрсетілді. Сүтті-өсімдік өнімінің құрамындағы амин қышқылдарының мәліметтері кестеде көрсетілген.

Зерттелетін өнімінің биологиялық құндылығын сипаттау үшін, ақуыздың массалық үлесі, аминқышқылдық құрамы анықталды. Зерттеу нәтижелерінен көріп тұрғандай сұлу жармасы қосылған сүтті-өсімдік өнімінің ақуыздар толығымен алмастрылмайтын амин қышқылдарының жиынтығымен сипатталады. Бұл жерден пайымдайтынымыз сұлу жармасын қоспа ретінде қосқан кезде барлық алмастрылмайтын амин қышқылдарының жиынтығының жоғарлауына мүмкіндік берді. Бұл сұлу құрамындағы ақуыз лизин және триптофан мөлшерінің жоғарлауымен ерекшеленді, әдетте бұл сүт өнімдерінде биологиялық құндылық шектеулі.

3-кесте – Зерттеліп жатқан үлгілердегі алмастрылмайтын амин қышқылдарының мөлшері

| Амин қышқылдар | Сүт, X*, мг/г | Сұлу жармасы, X*, мг/г | Сүт+сұлу жармасы, X*, мг/г |
|--|---------------|------------------------|----------------------------|
| Валин | 50,28 | 55,91 | 57,31 |
| Изолейцин | 48,10 | 54,93 | 57,31 |
| Лейцин | 79,69 | 93,51 | 98,53 |
| Лизин | 63,77 | 73,67 | 76,77 |
| Метионин + цистин | 27,97 | 30,55 | 33,13 |
| Треонин | 36,46 | 50,28 | 60,42 |
| Триптофан | 9,83 | 10,97 | 12,11 |
| Фенилаланин + тирозин | 82,83 | 101,43 | 111,36 |
| *Өнімдегі 1 г ақуыздағы амин қышқылының мөлшері. | | | |

Осылайша, барлық зерттеу нәтижелерін талқылай келе, сұлу жармасы қосылған биологиялық құндылығы жоғары биоөнім өндірілді.

Сүтті-өсімдік негізіндегі биоөнімді ферментациялау процесін зерттеу.

Сүт және оның қайта өңдеу өнімдері өнімді зақымдауды тудыратын, микроағзаларды дамуына қажетті оптималды қоректік ортасы болып табылады. Температура – микроағзалардың өміршеңдігіне әсер ететін факторлардың бірі. Оны өзгерту арқылы олардың дамуына қолайлы немесе керісінше қолайсыз жағдай тудыруға болады. пастеризацияның негізгі мақсаты – патогенді улы микрофлорасын жою және ферменттердің инактивациясы.

Зерттеудің мақсаты оптималды температураны және жылумен өңдеу ұзақтығын анықтау болып табылады. Сүтті қышқыл өнімдердің пастеризациясының оптималды температурасы 85-95⁰С, сондықтан таңдалған температура 90⁰С-ді құрайды. Жылумен өңдеудің оптималды ұзақтығы 3, 5 және 7 минут аралығында 90⁰С температурасында пастеризациясынан кейін қалған сүтті-өсімдік негізіндегі өніміндегі қалған микрофлора көрсеткішін зерттеп болған соң анықталды. Пастеризация режимінің сүтті-өсімдік негізіндегі өнімнің қалған микрофлорасына әсер ету нәтижесі 4-ші кестеде көрсетілген.

Барлық сүтті-өсімдік негізіндегі өнім үлгілерінде пастеризациядан кейін 1 грамда ашытқылар және зең саңырауқұлақтар, сонымен қатар 10 грамда БГКП анықталмады.

Кестеде келтірілген мәліметтерге байланысты, байқағанымыз, пастеризация ұзақтығы сүтті-өсімдік негізіндегі өнімнің қалдық микрофлорасына едәуір әсер етеді. Осылайша, пастеризация кезінде (90⁰С 3 минут аралықта) мезофильді аэробты және факультативті-анаэробты микроағзалар

4-кесте – Сүтті-өсімдік негізіндегі өнімді пастеризациялау режимінің қалдық микрофлорасына әсер ету сипаттамасы

| Микробиологиялық көрсеткішінің атауы | Жасушалық концентрация, lgКОЕ/см ³ | | | |
|--------------------------------------|---|--|-------------|-------------|
| | Пастеризацияға дейін | Пастеризация кезінде өмір сүру ұзақтығы, мин | | |
| | | 3 | 5 | 7 |
| КМАФАнМ | 5,18 | 2,20 | 1,90 | 1,85 |
| Споралы микроағзалар: | | | | |
| мезофильді | 2,18 | 1,78 | Анықталмады | Анықталмады |
| термофильді | 2,20 | 2,00 | 1,24 | 1,18 |

мөлшері (ары қараай КМАФАНМ) және споралы микроағзалар мөлшері, 5 және 7 минут аралыққа қарағанда едәуір жоғарлады. Сонымен бірге 5 және 7 минут аралығында пастеризациядан кейін сүтті-өсімдік негізіндегі өнімінде микробиологиялық көрсеткіштерінің арасындағы айырмашылық едәуір. Осы нәтижелерді ескере келіп, сүтті-өсімдік негізіндегі өнімді жылумен өңдеу режимі келесідей: пастеризация 90⁰С, ал пастеризация ұзақтығы 5 минут.

Қорытынды. Дұрыс тамақтану – адам денсаулығының және жұмыс істеу қабілетінің негізгі шарттарының бірі. Адам ағзаның энергетикалық шығының қалпына келтіріп отыратын тағамның негізгі массасын ақуыздар, майлар, көмірсулар құрайды. Ағзаның тәуліктік қажеттілігі ақуызға шамамен - 100 г, майға - 80-100 г, көмірсуларға – 600 г. Ақуыздар алмастырылмайтын, эссенциальды заттарға жатқызылады. Ақуызсыз организмнің өсуі, дамуы және өмір сүруі мүмкін емес. Тағамдану рационасындағы ақуыздың биологиялық құндылығы және жеткілікті мөлшері организмнің оптималді ішкі ортасын құруға мүмкіндік береді, сонымен қатар жалпы жұмысқа қабілеттілігін және ауруға төзімділігін жоғарлатады. Осыған байланысты аурудың алғашқы профилактикасын жасауда халықтың тамақтану рационасында қажетті сапалы ақуыздар мөлшері негізгі фактор болып табылады.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Поздняковский В.М. Гигиенические основы питания, безопасность и экспертиза продовольственных товаров. – Новосибирск: Изд-во «Новосиб. университета», 1999. – 448 с.
- [2] Гаврилова Н.Б. Гигиенические основы питания и контроля качества пищи. Учебное пособие. – Семипалатинск, 1998. – 182 с.
- [3] Аханова В.М. Гигиена питания. – Ростов: Феникс, 2000. – 384 с.
- [4] Петровский К.С. Гигиена питания. М.: Медицина, 1982, с измен. – 527 с.
- [5] Справочник химического состава / Под ред. В. П. Скурихина. – 1, 2 т.
- [6] Малахов Г.П. Здоровое питание. – СПб.: ИК «Комплект», 1997. – 495 с.

REFERENCES

- [1] Pozdnjakovskij V.M. Gigienicheskie osnovy pitaniya, bezopasnost' i jekspertiza prodovol'stvennyh tovarov: Novosibirsk: Izd-vo «Novosib. universiteta», 1999. 448 s.
- [2] Gavrilova N.B. Gigienicheskie osnovy pitaniya i kontrolja kachestva pishhi. Uchebnoe posobie. Semipalatinsk, 1998. 182 s.
- [3] Ahanova V.M. Gigena pitaniya. Rostov: Feniks, 2000. 384 s.
- [4] Petrovskij K.S. Gigena pitaniya. M.: Medicina, 1982, s izmen. 527 s.
- [5] Spravochnik himicheskogo sostava. Pod red. Skurihina V.P. 1, 2 t.
- [6] Malahov G.P. Zdorovoe pitanie. SPb.: IK «Komplekt», 1997. 495 s.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ТЕПЛОЙ ОБРАБОТКИ НА ОСНОВЕ МОЛОЧНО-РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОДУКТА

С. Ж. Лесбекова, Д. Е. Кудасова, Г. М. Калдыбекова, Т. Абдиева, А. Серікбай

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

Ключевые слова: пробиотические микроорганизмы, овсяная крупа, пищевые продукты, биологические продукты, продукты питания, молочно-растительные.

Аннотация. Полноценное питание является одним из главных условий и основой для жизни и здоровью детей и подростков и для продления жизни. Наиболее широко в пищу применяют пробиотические свойства, оно полностью соответствует сложившейся качествами, многокомпонентных комбинированных молочно-растительных продуктов.

В литературных данных показано, что в питании детей школьного возраста встречаются недостатки современного питания. В связи с этим актуальность работы является исследование и проектирование обработки овсяной крупы с молочно-растительными биологическими продуктами и их применение в пищевом рационе детей школьного возраста.

Неблагоприятные условия окружающей среды существенно влияет на организм человека. Улучшение здоровья населения, включение происходит через в рацион питания лечебно-профилактических продуктов питания. В настоящее время в связи с ухудшением состояния окружающей среды, очень трудно обеспечение оптимального размером традиционных продуктов питания и необходимых питательных веществ организм человека. Поэтому рекомендуется производство продуктов, влияющих на рост и полезные для организма человека, медико-биологические специальные продуктов питания.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 73 – 77

THE SYNTHESIS OF THE DIBORIDE NANOPOWDER

G. K. Milieuva¹, Z. A. Mansurov², S. J. Lesbekov¹, D. E. Kudasova¹, D. A. Daulbai¹¹M. Aueзов South Kazakhstan state university, Shymkent, Kazakhstan,²Institute of Combustion Problems, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: dariha_uko@mail.ru

Key words: diboride, nano, thermometer, x-ray analysis, self-propagating high-temperature synthesis.

Abstract. Modern materials ensure the operation of machines and instruments at high temperatures, pressure, speed and aggressive environmental conditions. Among anoxic- and slowly floating materials that meet modern requirements, boride and boride containing materials are of particular importance.

For the synthesis of boride containing materials the best way is self-propagating high-temperature synthesis (SHS). Advantages of the SHS in comparison with the classical methods are that it is possible not to use large equipments and to obtain savings in energy, time since the SHS process occurs instantly and is the most advantageous in the synthesis of hard floating materials.

In this work we studied the problem of obtaining nanostructured titanium diboride by the method of SHS and its properties. It is installed dependence of output of the nanopowder on the concentration of sodium chloride and temperature of combustion of the starting materials.

ӘӘЖ 628.35

ДИБОРИД НАНОҰНТАҚТАРЫН СИНТЕЗДЕУ

Г. К. Майлиева¹, З. А. Мансуров², С. Ж. Лесбекова¹, Д. Е. Кудасова¹, А. Д. Дауылбай¹¹М. Ауезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан,²Институт Проблем горения, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: диборид, наноұнтақ, пирометр, рентгенофазалы талдау жасау, өздігінен таралатын жоғарғы температуралы синтез.

Аннотация. Заманауи материалдар машина жұмысын, жоғары температура, қысым, жылдамдықтағы аппаратура механизмін және қоршаған ортаның агрессивті шартын қамтамасыз етуі қажет. Осы талаптарға жауап беретін оттегісіз баяу балкитын қосылыстар ішінде борид және борид құрамды материалдар маңызды орын алады.

Борид құрамды отқа төзімді материалдарды синтездеуде қазіргі кезде ең қолайлы тәсіл өздігінен таралатын жоғары температуралы синтез (ӨЖС) процесі болып табылады. Оның дәстүрлі әдістен айырмашылығы үлкен көлемді құрылғылармен жұмыс істемейді, сондықтан энергия шығымы аз жұмсалады және синтез уақыты өте қысқа, осыған байланысты ӨЖС-процесін қиын балкитын қосылыстар мен материалдар, яғни керамика, қатты құйма, жапқыш және тағы басқалар синтезінде кеңінен қолданылады.

Жұмыста наноқұрылымды титан диборидін өздігінен таралатын жоғары температуралы синтез әдісін қолдану арқылы алу мәселесі және материалдың қосымша беріктілік пен отқа төзімділік қасиеттерінің артуы нақты зерттелген.

Титан диборидінің жану температураларының диаграммалары тұрғызылу арқылы диборидтің нанобөлшектерін алу процесі натрий хлоридінің концентрациясына жану температурасына тәуелді екендігі анықталды.

Кіріспе. Қазіргі заманғы материалдар машина жұмысын, жоғары температурада, қысымда, жылдамдықтағы аппаратура механизмін және қоршаған ортаның агрессивті шартын қамтамасыз етуі қажет. Осы талаптарға жауап беретін оттексіз баяу балқитын қосылыстар ішінде борид және боридқұрамды материалдар маңызды орын алады [1]. Олар жоғары температурада жұмыс істегенде эрозиялық және коррозиялық тұрақты, салыстырмалы түрде жоғары электр және жылу өткізгіштік көрсетеді, түсті металдармен әрекеттеспейді, суық және қызған күйде механикалық әсерге берік. Осы қасиеттеріне қарай металлургияда да кеңінен қолданылады.

Борид құрамды отқа төзімді материалдарды синтездеуде қазіргі кезде ең қолайлы тәсіл өздігінен таралатын жоғары температуралы синтез (ӨЖС) процесі болып табылады. Оның дәстүрлі әдістен айырмашылығы үлкен көлемді құрылғылармен жұмыс істемегендіктен энергия шығымы аз кетеді және синтез уақыты өте қысқа, сондықтан ӨЖС-процесін қиынбалқитын қосылыстар мен материалдар, яғни керамика, қатты құйма, жапқыш және тағы басқалар синтезінде кеңінен қолданылады [2].

Жұмыста нанокұрылымды титан диборидін өздігінен таралатын жоғары температуралы синтез әдісін қолдану арқылы алу мәселесі және материалдың қосымша беріктілік пен отқа төзімділік қасиеттерінің артуы нақты зерттелген.

Титан диборидінің түзілу механизмі оны синтездеудің әр түрлі әдістерінде әр алуан және әрбір нақтылы жағдайда жүретін процестердің кинетикалық факторларымен және бастапқы заттардың күйімен – ұнтақ бөлшектерінің ірілігімен, олардың тазалығымен және т.б. анықталады.

Шикізат ретінде: бор қышқылы, титан оксиді, магний ұнтағы қолданылды. Ұнтақ қоспалар араластырылу, пресстелу арқылы алынған үлгілер ауада ӨЖС жүргізуге жіберілді, аралық өнім қайта ұнтақталған соң тұз қышқылымен 1:1 қатынасында бейтарапталды [3].

Жану температурасы 600-ден 3000°C-ке дейінгі аралықтағы температураларды өлшеуге арналған Raytek 3-1М пирометрімен өлшенді. Температураны өлшеу кезіндегі қателік, өлшеу жүргізіліп жатқан температуралық интервалға байланысты. Соған байланысты 1500°C дейінгі температураларды өлшеуде қателік $\pm 0,5\%$ -ін, 1500–2000°C-ге дейінгі интервалда, алынған температураның $\pm 1\%$ -ін құрайды, ал 2000°C-ден жоғары температураларды өлшеуде, алынған температуралардың $\pm 2\%$ -не дейін жетуі мүмкін. Алынған мәліметтерді, нақты уақыт аралығында, компьютерден шығару үшін, прибордың қосымша стандартты PS-232C протоколын қолданатын порты бар. Соның арқасында температураны, экспериментті басынан аяғына дейін жүргізуде, қадағалауға болады. Прибордың температураны табуының уақыт интервалы- 0,5 с-ті құрайды [4, 5].

Рентгеноқұрылымдық және рентгенофазалық анализ «ДРОН-4М» дифрактометрінде, $20^\circ \approx 10^\circ - 70^\circ$ интервалында жұмыс істейтін, кобальт C_0K_α сәулелермен шағылыстыру арқылы жасалынды.

Үлгілердің рентгенофазалық анализі

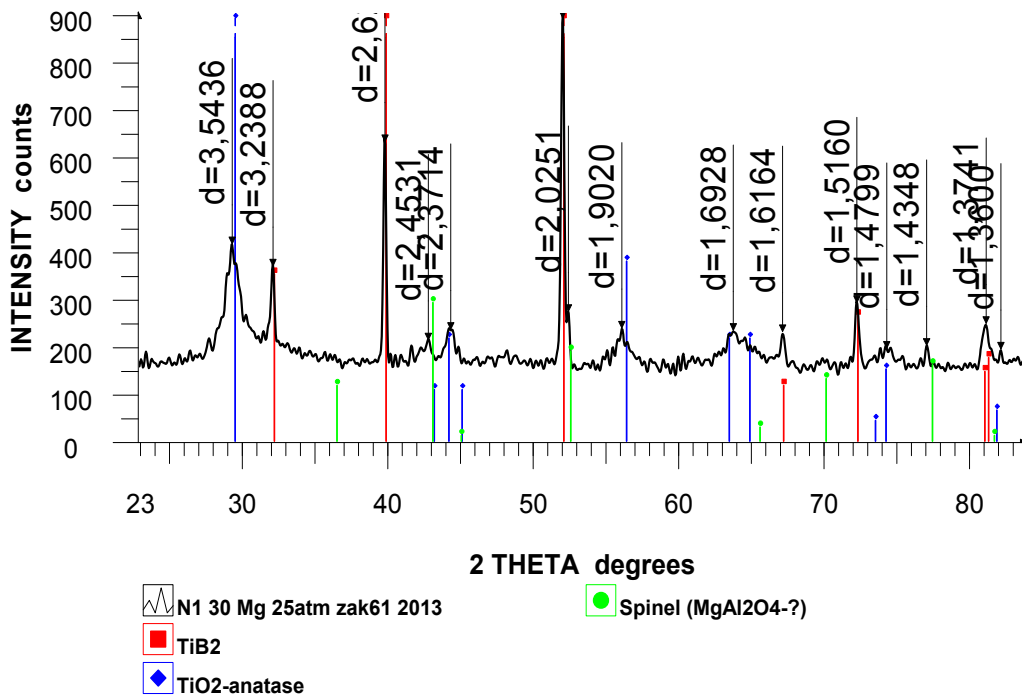
Үлгі № 1 (30% Mg, 25 атм)

Үлгінің нәтижесі:

TiB₂.....54,5 %

TiO₂-anatase.....42,6 %

Spinel (MgAl₂O₄-?).....2,9 %

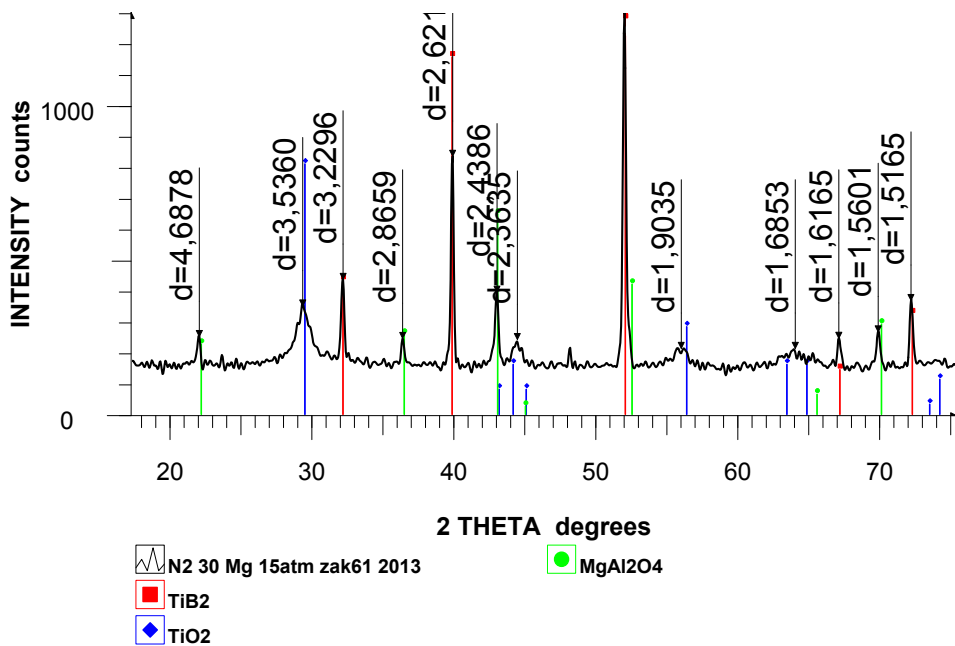


1-сурет – Үлгінің дифрактограммасы № 1 (30% Mg, 25 атм)

Үлгінің нәтижесі:

TiB₂.....62,0 %
 TiO₂-anatase.....22,6 %
 Spinel (MgAl₂O₄-?).....15,4 %

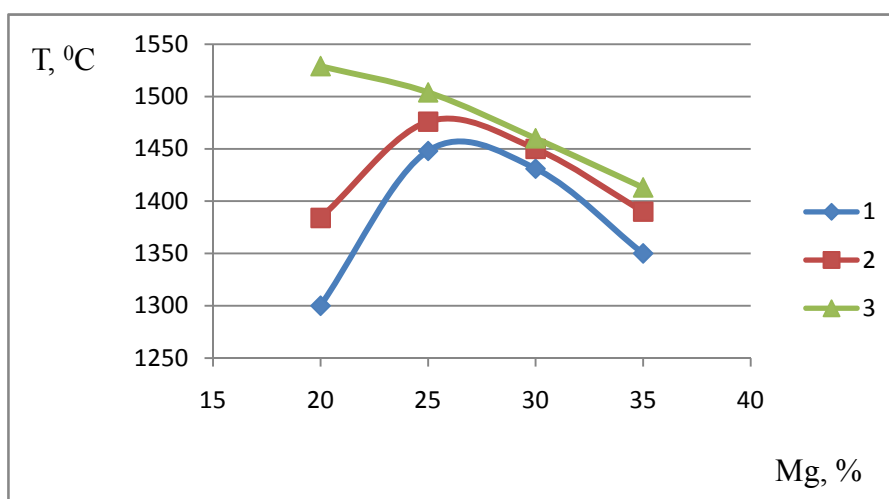
Алынған шпинельдер MgAl₂O₄ дифрактограммасына өте ұқсас, ал MgTi₂O₄ және Mg₂TiO₄ мүлдем ұқсамайды.



2-сурет – Үлгінің дифрактограммасы № 2 (30% Mg, 15 атм)

Рентгенофазалық анализ нәтижесі бойынша TiB_2 – 54,5 % құрайды.

Жүйедегі компоненттердің массалық үлесінің өзгерісі процестің жүруіне әсерін тигізетіндігі байқалды. Жүйедегі Mg-дің массалық үлесін 20-35% аралығында өзгерте отырып процестің жүрілуінің белсенді аумағы анықталды. Осы анықталған аумақта (25-30%) процестің жүру қарқындылығы артып, температураның максималды мәні анықталды. Сонымен қатар, алынған диборидті зерттеу нәтижесінде оны синтездеу процесі NaCl қоспасының концентрациясына тәуелділігі байқалды. Оның оптимальді концентрациясын анықтауға тәжірибе жасалды, температура-концентрация тәуелділігі қарастырылды.

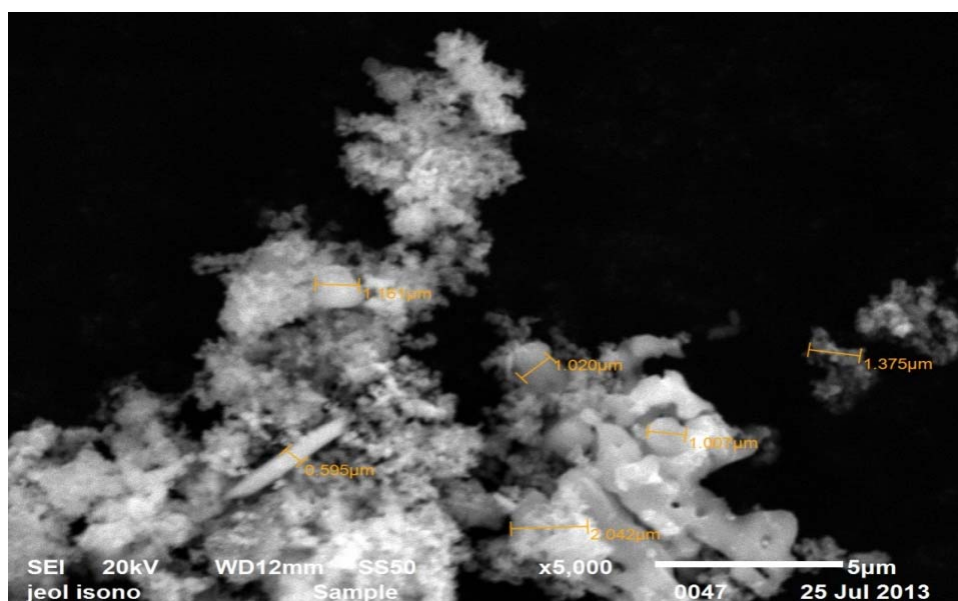


3-сурет – $TiO_2 + 2H_3BO_3 + 5Mg + 2NaCl$ жүйесінің атмосферадағы сызбасы:
1 көк сызық – 5% NaCl; 2 қызыл сызық – 10% NaCl; 3 жасыл сызық – 15% NaCl

Жоғарыдағы графикте көрсетілгендей NaCl-дің жүйе құрамындағы массалық үлесінің артуына байланысты үлгілердің жану температурасы жоғарылап, процестің жылдамдығы артты. Жану процестерінде алғашқы толқын таралуын стационарлы режимінің жеке еместігі анықталды.

Электрондық-микроскопиялық анализ электрондық жарық өткізгіш Jem-100CX; U-100kv микроскопында жүргізілді.

Электронды микроскопта жасалған анализ нәтижесінде ОЖ-синтез және қышқылмен өңдеуден соң диборид титанның TiB_2 наноөлшемді бөлшектері түзілгендігі анықталды:



СЭМ нәтижесі бойынша біркелкі емес 100 нм 2 мк дейін түтікше формалы диборид нанобөлшектері алынды.

Сонымен, үлгілердің жану температураларының диаграммалары тұрғызылу арқылы диборидтің нанобөлшектерін алу процесі натрий хлоридінің концентрациясына жану температурасына тәуелді екендігі анықталды. 15% пайыздық натрий хлориді 1529°C градус температурада өнімнің шығымы көп және қаттылық қасиеттері жоғары болатындығы көрсетілді.

ӘДЕБИЕТ

[1] Сычев А.Е., Мержанов А.Г. Самораспространяющийся высокотемпературный синтез наноматериалов // Успехи Химии. – 2004. – Т. 73, № 2. – С. 157-158.

[2] <http://www.lgz.ru>.

[3] Еремин В.В., Дроздов А.А. Нанохимия и нанотехнологии. – М.: Дрофа, 2009.

[4] Получение и исследование наноразмерных частиц Fe_3O_4 с сильным магнетизмом / Guo Can-Xiong, Duan Xue, Zhang Mi-lin. // Fine Chem. – 2002. – 19, № 12. – P. 707-710. (РЖХ 2003–10Б2.625).

[5] Пат. 2194666 РФ. Наноструктурные окиси и гидроксиды и способы их синтеза / Т.Д. Ксиао, П.Р. Стратт, Б.Х. Кеар, Х. Чен, Д.М. Вонг; заявл. 18.11.97.; опубл. 20.12.02., БИ № 35.

REFERENCES

[1] Sychev A.E., Merzhanov A.G. Samorasprostranjajushhijsja vysokotemperaturnyj sintez nanomaterialov // Uspehi Himii. 2004. T. 73, N 2. P. 157-158.

[2] <http://www.lgz.ru>.

[3] Eremin V.V., Drozdov A.A. Nanohimija i nanotehnologii. M.: Drofa, 2009.

[4] Poluchenie i issledovanie nanorazmernih chastic Fe_3O_4 s sil'nym magnetizmom. /Guo Can-Xiong, Duan Xue, Zhang Mi-lin. // Fine Chem. 2002. 19, N 12. P. 707-710. (RZhH 2003–10B2.625).

[5] Pat. 2194666 RF. Nanostrukturnye okisi i gidrookisi i sposoby ih sinteza / T.D. Ksiao, P.R. Stratt, B.H. Kear, H. Chen, D.M. Vong; zajavl. 18.11.97.; opubl. 20.12.02., BI № 35.

СИНТЕЗ НАНОПОРОШКА ДИБОРИДА

Г. К. Майлиева¹, З. А. Мансуров², С. Ж. Лесбекова¹, Д. Е. Кудасова¹, А. Д. Дауылбай¹

¹ЮКГУ им. М. Ауезова, Шымкент, Казакстан,

²Институт Проблем горения, Алматы, Казакстан

Ключевые слова: диборид, нанопорошок, пирометр, рентгенофазовый анализ, самораспространяющийся высокотемпературный синтез.

Аннотация. Современные материалы должны обеспечивать работу машин и аппаратур при высоких температурах, давлении, скорости и агрессивных условиях окружающей среды. Среди бескислородно- и медленноплавяющихся материалов, соответствующих современным требованиям, борид и боридсодержащие материалы имеют особое значение.

Для синтеза боридсодержащих материалов самым выгодным способом является самораспространяющийся высокотемпературный синтез (СВС). Преимущества СВС по сравнению с классическими методами заключается в том, что можно не пользоваться большегабаритными оборудованьями и получить экономию в количестве энергии, во времени, так как процесс СВС протекает мгновенно и является самым выгодным при синтезе трудноплавяющихся материалов.

В работе изучены проблемы получения наноструктурного диборида титана методом СВС и его свойства. Установлена зависимость выхода нанопорошка от концентрации хлорида натрия и температуры горения исходных материалов.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 78 – 84

**FEED ADDITIVE FOR FARM ANIMALS BASED
ON BENTONITE AND CHLORELLA**

**N. S. Sunnenova, A. Tursynova, N. Erezhepova,
N. B. Sarsenbayeva, A. M. Kalekeshov, E. K. Makashev**

RSE on REM "Institute of Human and Animal Physiology" CS MES RK, Almatu, Kazakhstan.
E-mail: i_phyz@mail.ru

Keywords: Bentonite, chlorella, oats, ruminants, feed additive.

Abstract. The technical result is that the proposed version of the feed additive are balanced and high-calorie feed protein supplement with a high content of biologically active and mineral elements that will ensure the increase of efficiency of agricultural animals and birds. Feed additive components are distinguished by their ratio and technical result as well as the proposed food additive in its composition is almost the maximum set of macro-and micro-nutrients due to have a bentonite sorption and ion-exchange properties, can achieve feed savings due to better digestibility, improve the physiological condition of the animals and also receive feed additives at low cost, providing and maintaining high-quality performance, save significant energy in the production of feed additives for farm animals. The feed additive has been well studied in the harmlessness when applied to the fattening of animals, especially carefully at the physical and chemical composition. In the production of the feed additive provided by our balanced feed for the exchange of energy and protein, which increases the live animal weight by reducing the cost of feed per unit of output. The economic effect of using dietary supplements is calculated based on the amount of raw material saved and its cost, including VAT, operating costs and profitability.

УДК 636.085.39.15

**КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
ЖИВОТНЫХ НА ОСНОВЕ БЕНТОНИТА И ХЛОРЕЛЛЫ**

**Н. С. Сунненова, А. Турсынова, Н. Ережепова,
Н. Б. Сарсенбаева, А. М. Калекешов, Е. К. Макашев**

РГП на ПХВ «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: бентонит, хлорелла, овес, жвачные животные, кормовая добавка.

Аннотация. Технический результат заключается в том, что предлагаемый вариант кормовой добавки сбалансирован и относится к высококалорийным кормовым белковым добавкам с повышенным содержанием биологически активных и минеральных элементов, что позволит обеспечить повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц. Кормовая добавка отличается своим соотношением компонентов и техническим результатом, так как предлагаемая кормовая добавка в своем составе имеет практически максимальный набор макро- и микроэлементов, благодаря бентониту обладает сорбционными и ионообменными свойствами, позволяет добиться экономии кормов за счет лучшей усвояемости, улучшить физиологическое состояние животных, а также получить кормовые добавки с низкой себестоимостью, обеспечением и сохранением высоких качественных характеристик, экономить значительные энергоресурсы при производстве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных. Кормовая добавка хорошо изучена на

безвредность при применении его на откорме животных, особенно тщательно на физико-химический состав. При производстве нашей кормовой добавки обеспечивается сбалансированность кормов по обменной энергии и белку, что повышает живую массу животных при уменьшении затрат кормов на единицу продукции. Экономический эффект применения БАД рассчитан исходя из объема сэкономленного сырья и его себестоимости, с учетом НДС, производственных затрат и рентабельности.

Введение. 70-80 % затрат в животноводстве приходятся на корма. Успешное развитие этой отрасли сельского хозяйства не представляется возможным без наличия сбалансированных кормов и оптимальной кормовой базы. За последнее десятилетие наравне с премиксами, витаминами, биодобавками кормовой рацион сельскохозяйственных животных пополнился водорослями. К ним относится хлорелла – представитель зеленых микроскопических водорослей [1].

Наибольшая ценность суспензии хлореллы заключается в биологической активности используемых штаммов, которая выражается в дополнительных привесах молодняка, сохранности поголовья, улучшении репродуктивных свойств, повышении иммунитета, а также в последствии, когда эффект ее воздействия на организм животного сохраняется в течение длительного периода. Суспензия хлореллы применяется один раз за период откорма животного в течение определенного времени, установленного для каждого вида и возрастной группы. Целесообразность применения ее заключается в том, что она способствует более полной усвояемости кормов и соответственно получению дополнительных привесов, увеличению молочной продуктивности, повышению яйценоскости кур, лучшей сохранности поголовья [1].

Использование суспензии хлореллы позволяет снизить применение лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков для лечения животных. Это позволит получать животноводческую продукцию более высокого качества [2, 3].

Методы исследования. Для компонентов БАД мы взяли бентонит, хлореллу и овес. В лаборатории готовили инокуляты, которые подавали в производственные культиваторы. В начале 1 мл инокулята было 2-3 млн клеток хлореллы. В производственных культиваторах вместимостью 1000 л, начальная плотность суспензии составляла 3-5 млн, конечная - более 150-200 млн клеток в 1 мл. Подсчет проводился с помощью микроскопа Axioscope – 40, CarlZeiss, с цифровой фотокамерой и программным обеспечением «Видеотест-морфология» (Санкт-Петербург). Для приготовления БАД в гранулах мы использовали дробильное устройство, смеситель и пресс-гранулятор. Использовались биохимические методы. Для приготовления кормовой добавки с хлореллой сначала измельчаем овес и бентонит. Затем заливаем сверху суспензию хлореллы и смешиваем. Пропускаем через пресс-гранулятор и получаем кормовую добавку состоящей из бентонита, хлореллы и овса, в соотношении 40:20:40 соответственно в виде гранул.

Результаты исследований и их обсуждение

В современном сельском хозяйстве широко применяется как пестициды, так и различные минеральные удобрения. Для борьбы с грибковыми, бактериальными и вирусными заболеваниями растений применяются – фунгициды, сорные и ядовитые растения уничтожают гербицидами. Пестициды наиболее распространены во внешней среде. Обнаружить их можно в воздухе, воде, почве, растениях. Небрежное хранение и неправильное применение приводит к загрязнению кормов, воды и воздуха. Пестициды обладают достаточной стойкостью, а поэтому очень медленно разрушаются и способны аккумулироваться как в растениях, так и живых объектах. Все это является опасным для человека и животных, так как с продуктами питания и кормами поступают в организм ядовитые вещества [4, 5].

БАД хорошо изучен на безвредность при применении его на откорме животных, особенно тщательно на физико-химический состав.

По результатам испытания на токсичные элементы и пестициды мы удостоверились в безопасности кормовой добавки для животных (таблица 1).

Таблица 1 – Анализ кормовой добавки с хлореллой на токсичные элементы и пестициды

| Наименование показателей, единица измерений | Допустимые нормы по НД | Фактически получено | Обозначение НД на методы испытаний |
|---|------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Токсичные элементы, мг/кг не более | | | |
| Свинец | 6,0 | 1,21 | ГОСТ Р 51301 - 99 |
| Кадмий | 1,0 | 0,03 | ГОСТ Р 51301 - 99 |
| Мышьяк | 3,0 | Не обн. | ГОСТ 26930 - 86 |
| Ртуть | 1,0 | Не обн. | ГОСТ 26927- 86 |
| Пестициды, мг/кг, не более | | | |
| ГХЦГ (α, β, γ – изомеры) | 0,1 | Не обн. | МЗ СССР МУ 2142 - 80 |
| ДДТ и его метаболиты | 0,1 | Не обн. | МЗ СССР МУ 2142 - 80 |
| Гептахлор | Не доп. | Не обн. | МЗ СССР МУ 2142 - 80 |
| Алдрин | Не доп. | Не обн. | МЗ СССР МУ 2142 - 80 |
| Минотоксины, мг/кг, не более | | | |
| Дезоксиниваленол | 0,7 | Не обн. | СТ РК 1988 -2010 |
| Зеараленон | 1,0 | Не обн. | МУ 4. 05. 021. 97 |

Важное значение в организации полноценного питания животных имеет обеспечение их витаминами. Последние играют большую роль в обмене веществ, многие из них входят в ферментные системы, выполняя при этом роль коферментов. Присутствуя в организме в чрезвычайно малых количествах, по сравнению с основными питательными веществами, они оказывают существенное влияние на белковый, углеводный, липидный и минеральный обмен, улучшают использование всех питательных веществ, состояние здоровья животных и способствуют повышению их продуктивности. Содержание некоторых жизненно важных витаминов приведено в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание некоторых витаминов в кормовой добавке с хлореллой

| Наименование показателей, единица измерений | Допустимые нормы по НД | Фактически получено | Обозначение НД на методы испытаний |
|---|------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Содержание витаминов, в 100 г: | | | |
| β -каротин, мг | – | 5,83 | ГОСТ 7047 -55 |
| В1, мг | – | 1,2 | ГОСТ 7047 -55 |
| В2, мг | – | 0,8 | ГОСТ 7047 -55 |
| РР, мг | – | 2,39 | ГОСТ 7047 -55 |
| С, мг | – | 45,3 | ГОСТ 7047 -55 |
| Е, мг | – | 8,2 | ГОСТ 30627.3-98 |

Белки – важнейший компонент клеток и тканей живого организма. Для восстановления клеток, построения тела, и образования продукции (шерсть, яйца, молоко, мясо) животным необходимы протеины кормов. Гормоны, иммунные тела, ферменты состоят из белков. Биологическая ценность протеина в основном зависит от аминокислотного состава кормовой добавки. Отсутствие или недостаток незаменимых аминокислот в рационе вызывает у животных отрицательный баланс азота, потерю аппетита, изменения в составе крови, нарушения в нервной, эндокринной и ферментативной системах. При недостатке полноценного протеина в рационе у животных отмечается снижение белковых фракций в сыворотке крови, снижаются защитные свойства и устойчивость к заразным и незаразным болезням. Постоянный недостаток полноценного белка приводит к возникновению инфекций желудочно-кишечного тракта и органов дыхания. Это характерно для свиней и птиц. В нашей кормовой добавке содержание белка находилось на уровне $30,16 \pm 1,02$ г/100г (таблица 3). Это говорит о кормовой ценности БАД по отношению к протеину.

Таблица 3 – Пищевая ценность биологически активной добавки с хлореллой

| Наименование показателей, единица измерений | Допустимые нормы по НД | Фактически получено | Обозначение НД на методы испытаний |
|---|------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Пищевая ценность, г/100 г | | | |
| Белок | – | 30,16±1,02 | ГОСТ 30648.1 - 99 |
| Жир | – | 8,3 ± 0,23 | ГОСТ 30648.2 -99 |
| Углеводы | – | 42,15±3,22 | И. М.Скурихин,1987 |
| Влага | – | 11,92±1,19 | ГФ РК |
| Зола | – | 53,47±4,34 | ГФ РК |

Белки растительного происхождения не содержат или содержат в незначительном количестве важнейшие аминокислоты. Зерновые злаки бедны лизином, метионином, триптофаном, а бобовые культуры значительно богаче по аминокислотному составу. А в белке хлореллы содержатся все незаменимые аминокислоты. По литературным данным [6, 7], в 100 г. общего азота хлореллы содержится: (в г. азота аминокислот) 6,4 г аспарагиновой аминокислоты; 6,2 глицина; 7,7 аланина; 7,8 глутаминовой аминокислоты; 3,3 серина; 2,8 триозина; 5,8 пролина; 0,2 цистина; 5,5 валина; 15,8 аргинина; 3,3 гистидина; 3,5 изолейцина; 6,1 лейцина; 10,2 лизина; 1,4 метионина; 2,8 фенилаланина; 2,9 треонина; 2,1 триптофана.

Анализ кормовой добавки на содержание аминокислот показал хороший результат (таблица 4). Это говорит о том, что хлорелла является ценным компонентом нашей БАД.

Таблица 4 – Аминокислотный состав кормовой добавки с хлореллой

| Наименование показателей, единица измерений | Допустимые нормы по НД | Фактически получено | Обозначение НД на методы испытаний |
|---|------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Аминокислотный состав, мг/100г | | | |
| Аспарагиновая кислота | – | 2311,31 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Глутаминовая кислота | – | 3575,5 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Серин | – | 1550,5 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Гистидин | – | 705,012 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Глицин | – | 2519,73 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Треонин | – | 923,453 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Аргинин | – | 1592,63 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Аланин | – | 2545,72 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Тирозин | – | 1377,03 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Цистин | – | 811,432 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Валин | – | 1438,67 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Метионин | – | 1041,75 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| фенилаланин | – | 1461,69 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Йзолейцин | – | 871,403 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Лейцин | – | 1644,38 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Лизин | – | 1087,29 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Пролин | – | 1565,54 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Триптофан | – | 2311,31 | И. М. Скурихин, 1998 г. |
| Сумма аминокислот | – | 27677,49 | И. М. Скурихин, 1998 г. |

Минеральные вещества принимают самое активное участие в обмене веществ, в образовании буферных систем, а также необходимы для продуцирования животными молока, мяса, яиц, шерсти, хотя и не имеют энергетической ценности. Недостаточное поступление минеральных веществ в организм молодняка животных чревато задержкой их роста и развития, снижения устойчивости к заболеваниям и развитию различных патологий. Взрослые животные также чувствительны к недостатку минеральных веществ. При этом снижается живая масса, удои, плодовитость, растет бесплодие, рождение нежизнеспособного молодняка, а зачастую и мертворожденного.

Учитывая это, мы провели анализ кормовой добавки на некоторые жизненно важные минеральные вещества (таблица 5).

Таблица 5 – Минеральные вещества в составе кормовой добавки

| Наименование показателей, единица измерений | Допустимые нормы по НД | Фактически получено | Обозначение НД на методы испытаний |
|---|------------------------|---------------------|------------------------------------|
| Минеральные вещества, в 100 г | | | |
| Кальций, мг | – | 790±158 | Р4.1.1672 -2003 |
| Железо, мг | – | 3,34±0,67 | ГОСТ 26928 -86 |
| Йод, мкг | – | 425,29±5,05 | Р4.1.1672-2003 |
| Медь, мг | – | 2,79 | ГОСТ Р 51301 -99 |
| Цинк, мг | – | 7,13 | ГОСТ Р 51301 -99 |

Технический результат заключается в том, что предлагаемый вариант кормовой добавки сбалансирован и относится к высококалорийным кормовым белковым добавкам с повышенным содержанием биологически активных и минеральных элементов, что позволит обеспечить повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц. Кормовая добавка отличается от известных своим соотношением компонентов и техническим результатом, так как предлагаемые кормовые добавки в своем составе имеют практически максимальный набор макро- и микро-элементов, благодаря бентониту [8, 9] обладают сорбционными и ионообменными свойствами, позволяют добиться экономии кормов за счет лучшей усвояемости, улучшить физиологическое состояние животных, а также получить кормовые добавки с низкой себестоимостью, обеспечением и сохранением высоких качественных характеристик, экономить значительные энергоресурсы при производстве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных.

Многие кормовые добавки для животных привозятся из-за рубежа. Учитывая транспортные расходы и таможенные пошлины, в зависимости от расстояния и страны производителя продукт обходится конечному потребителю намного дороже. Например: кормовая добавка румистарт™ синбиотик, комплексный препарат для улучшения процессов рубцового пищеварения, повышения продуктивности и сохранности сельскохозяйственных животных стоит на нашем рынке 450 тенге/кг. Также БАД кортомикс® пребиотик, предназначенный для профилактики инфекций и нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта, повышая продуктивность и сохранность животных, снижая концентрацию токсинов в организме, освобождающий внутреннюю поверхность ЖКТ для развития полезной микрофлоры, способствующий размножению полезной микрофлоры, стоит 400 тенге/кг.

Поставляемые комбикормовой промышленностью кормовые добавки для животных и особенно для жвачных, дефицитны по вводу компонентов с высоким содержанием протеина, жира, в результате этого они испытывают дефицит по обменной энергии. При производстве нашей кормовой добавки обеспечивается сбалансированность кормов по обменной энергии и белку, что повышает живую массу животных при уменьшении затрат кормов на единицу продукции. В связи с этим сельское хозяйство требует улучшения качества и количества вырабатываемых кормов для жвачных животных, создания специализированных цехов и заводов, снижения их себестоимости, а это в свою очередь возможно при использовании нетрадиционного сырья, привлечение новых

технологий. Производство кормов для жвачных животных обеспечивает высокую сохранность голов, а сбалансированность кормов по обменной энергии и белку повышает живую массу животных при уменьшении затрат кормов на единицу продукции.

Экономический эффект производства кормов для животных, выработанных с применением БАД, рассчитан исходя из объема сэкономленного сырья и его себестоимости, с учетом НДС (15%), производственных затрат (10%) и рентабельности (10%) (таблицы 6).

Таблица 6 – Себестоимость компонентов кормовой добавки

| Компонент | Стоимость компонентов, тенге за 1 кг | Расходы для одного кг БАД, кг | Себестоимость, тенге |
|------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Хлорелла | 185 | 0,3 | 55,5 |
| Овес | 40 | 0,3 | 12 |
| Природный адсорбент бентонит | 20 | 0,4 | 8 |
| Вода водопроводная | 0,135 | 6 | 0,81 |
| ИТОГО | | | 76,31 |

С учетом НДС (15%) = 87,76 тенге.

С учетом производственных затрат (10%) = 96,54 тенге.

С учетом рентабельности (10%) = 106,2 тенге.

Выводы. Поставляемые комбикормовой промышленностью кормовые добавки для животных, и особенно для жвачных, дефицитны по вводу компонентов с высоким содержанием протеина, жира, в результате этого они испытывают дефицит по обменной энергии. При производстве нашей кормовой добавки обеспечивается сбалансированность кормов по обменной энергии и белку, что повышает живую массу животных при уменьшении затрат кормов на единицу продукции. В связи с этим сельское хозяйство требует улучшения качества и количества вырабатываемых кормов для жвачных животных, создания специализированных цехов и заводов, снижения их себестоимости, а это в свою очередь возможно при использовании нетрадиционного сырья, привлечении новых технологий. Производство кормовых добавок с хлореллой для жвачных животных обеспечивает высокую сохранность голов, а сбалансированность добавки по обменной энергии и белку повышает живую массу животных при уменьшении затрат кормов на единицу продукции.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Амерханов, Х., Шичкин Г., Кертиев Р. Стратегия модернизации молочного скотоводства России // Молочное и мясное скотоводство. – 2006. – № 6. – С. 2-5.
- [2] Асадулина, Ф., Хазилов Р., Яхин Ф. Применение микроэлементно-витаминного комплекса в рационе телят // Молочное и мясное скотоводство. – 2005. – № 3. – С. 14-15.
- [3] Миколайчик И.Н., Морозова Л.А. Влияние витаминно-минерального премикса на основе бентонита на продуктивность и физиологическое состояние коров // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2008. – № 3. – С. 14-18.
- [4] Гуревич К.Я., Константинов Ю.В., Беляков Н.А., Шумилкин В.Р., Гуревич А.К. Перитонеальный диализ. – СПб., 1999. – 96 с.
- [5] Луфт, В. М., Хорошилов, И. Е. Нутриционная поддержка больных в клинической практике. – СПб.: ВмедА, 1997. – 120 с.
- [6] Сальникова М.Я. Хлорелла – новый вид корма (Монография). – М.: Колос, 1977. – 96 с.
- [7] Богданов Н.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. – Волгоград, 2007. – 48 с.
- [8] Ташенов К.Т. Использование бентонита в качестве подкормки крупного рогатого скота в условиях промышленного комплекса (Методические рекомендации). – Алма-Ата, 1989. – 16 с.
- [9] Ташенов К.Т., Аюпова Р.С., Карынбаев Р.С., Макашев Е.К., Ким Т.Д., Иргалиева Л.А., Калекешов А.М. Релаксационное средство природных сорбентов, повышающее резистентность организма // Материалы 5 съезда физиологов Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск, 2002. – С. 46-49.

REFERENCES

- [1] Amerhanov X., Shichkin G., Kurt R. Strategy of modernization of dairy farming in Russia // Dairy and beef cattle. 2006. N 6. S. 2-5.
- [2] Asadulina F., Hazilov R., Jachin F. Application of microelement-vitamin complex in the diet of calves // Dairy and beef cattle. 2005. N 3. S. 14-15.
- [3] Mikolajczyk I.N., Morozova L.A. Effect of vitamin and mineral premix, based on bentonite on the productivity and physiological condition of cows // Feeding of agricultural animals and fodder production. 2008. N 3. S. 14-18.
- [4] Gurevich K.Y., Konstantinov V., Belyakov NA, Shumilkin V.R., Gurevich A.K. Peritoneal dialysis. SPb., 1999. 96 c.
- [5] Luft V.M., Khoroshilov I.E. Nutritional support of patients in clinical practice. SPb.: MMA, 1997. 120 s.
- [6] Salnikov M.J. Chlorella – a new kind of feed (monograph). M.: Kolos, 1977. 96 p.
- [7] Bogdanov N. Chlorella slurry in the diet of farm animals. Volgograd, 2007. 48 c.
- [8] Tashenov K.T. The use of bentonite as feeding cattle in the conditions of the industrial complex (Guidelines). Alma-Ata, 1989. 16 p.
- [9] Tashenov K.T., Aiupova R.S., Karynbaev R.S., Makashev E.K., Kim T.D., Irgalieva L.A. Kalekeshov A.M. Relaxation means of natural sorbents, increases body resistance // Proceedings of the 5th Congress of Physiologists of Siberia and the Far East. Novosibirsk, 2002. S. 46-49.

**АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ МАЛЫНА АРНАЛҒАН
БЕНТОНИТ ПЕН ХЛОРЕЛЛА НЕГЗІНДЕ ЖАСАЛҒАН АЗЫҚТЫҚ ҚОСПА**

**Н. С. Сүнненова, А. Тұрсынова, Н. Ережепова,
Н. Б. Сәрсенбаева, А.М. Қалекешов, Е.К. Макашев**

ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясы институты» ШЖҚ РМК, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: бентонит, хлорелла, сұлы, күйіс малы, азықтық қоспа.

Аннотация. Ұсынылып отырған азықтық қоспаның техникалық нәтижесі, оның ұтымды теңдестірілгенмен және ақуыздық көрсеткішінің жоғары болуымен ерекшеленеді. Биологиялық белсенді заттарға, минералды элементтерге бай болуы ауыл шаруашылық малы мен құстарының өнімділігін арттыруға мүмкіндік береді. Азықтық қоспаның құрамында макро және микроэлементтердің айтарлықтай мөлшері бар. Сонымен қатар, құрамында бентониттің болуына байланысты ионалмасушылық және сорбциялық қасиеті тағы бар. Азыққа кететін шығын мөлшерін азайтып, жануарлардың физиологиялық жағдайын жақсартады. Жануарларға арналған азық дайындауда экономикалық жағынан тиімділігін көруге болады. Алынған азықтық қоспаны жануарларға беру кезіндегі қауіпсіздігін қамтамасыз ету мақсатында оның физикалық, химиялық құрамы тексерілді. Мұндай азықтық қоспаны қолдану организмдегі қуат алмасу мен ақуыздық қажеттілікті қамтамасыз етіп жануарлардың тірі салмағы арттырады. Азықтық қоспаны берудегі экономикалық тиімділік, үнемделген шикізат мөлшері мен өзіндік құнын, ҚҚС есепке ала отырып, өндірістік шығындар мен рентабельділігін ескере отырып есептелді.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 85 – 89

**EFFECT OF HERBAL PREPARATION
ON BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS IN AGING****M. K. Murzahmetova¹, A. N. Aralbaeva², A. T. Mamataeva²,
R. S. Utegaliyeva², G. T. Zhamanbayeva¹**¹KazNU named after al-Farabi, Almaty, Kazakhstan,²Almaty Technological University, Kazakhstan.

E-mail: mairamur@mail.ru

Key words: aging, age changes, biochemical parameters of blood, phytopreparation.

Abstract. During the aging it is observed gradual accumulation of changes in organs and tissues of organism, which are assisting to possibility of disease and death. These irreversible changes define the aging process. Herbal polyphenols have a positive role and retard neurogenerative pathological processes and aging. In this connection, there is an interest to research the medicinal plants of Kazakhstan to the decreasing changes related with aging and saving health in different age periods. The influence of phytopreparation on biochemical parameters of rats' blood serum has been investigated. Experiments have been carried out in vivo conditions with 30 rats in 1-month age, 20 rats in six-month age, and 10 rats in 24-month age. Animals had been receiving phytopreparation per os in 200 mg/kg weight dose. It has been showed that using of phytopreparation improves biochemical parameters of blood serum in all experimental groups. The best effect has been observed in group of animals in 24-month age. In rats, which have been fed with herbal preparation decreased levels of bilirubin, transpherases, alkaline phosphatase, creatinin, uric acid that proves about the improving of functional conditions of hepatocytes and kidneys' cells. The decreasing of the glucose, cholesterin and total protein levels in serum have been observed too. So, phytocomposition could be recommended like preventive means in the improving of organism condition in different age changes.

УДК 613.2+615.874.2

**ЭФФЕКТ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА
НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ СТАРЕНИИ****М. К. Мурзахметова¹, А. Н. Аралбаева², Р. С. Утегалиева²,
А. Т. Маматаева², Г. Т. Жаманбаева¹**¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан,²Алматинский технологический университет, Алматы, Казахстан**Ключевые слова:** старение, возрастные изменения, биохимические параметры крови, фитопрепарат.

Аннотация. Известно, что с возрастом наблюдается постепенное накопление изменений в органах и тканях организма, которые содействуют возрастающей возможности болезни и смерти. Эти необратимые изменения определяют процесс старения. Было показано, что растительные полифенолы оказывают положительную роль и замедляют нейродегенеративные патологические процессы и старение. В связи с этим представляет интерес исследование экстрактов лекарственных растений Казахстана для снижения возрастных изменений и сохранения здоровья в разные возрастные периоды. Исследовано влияние фитопрепарата на биохимические показатели сыворотки крови крыс разных возрастных групп. Эксперименты проведены в условиях *in vivo* на 30 крысах месячного, 20 крысах 6-ти месячного и 10-ти крысах 24-месячного возраста. Животным в течение 2-х недель вводили перорально фитопрепарат в дозе 200 мг/кг массы тела. Для получения фитопрепарата использовали листья облепихи, траву мяты перечной и корни копеечника забытого.

Показано, что использование фитопрепарата улучшает биохимические показатели сыворотки крови в исследованных группах животных. Наилучший положительный эффект применения фитоконпозиции наблюдается у 24-месячных животных. У крыс, получавших препарат, достоверно снизился уровень билирубина, аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, креатинина, мочевой кислоты, который свидетельствует об улучшении функционального состояния гепатоцитов и клеток почек, также уменьшилось содержания глюкозы, холестерина и общего белка. Следовательно, фитоконпозицию можно использовать в качестве профилактических средств для улучшения состояния организма при возрастных изменениях.

Старение - постепенное накопление изменений в органах и тканях организма, которые содействуют возрастающей возможности болезни и смерти. Биологическое старение связано с увеличением клеточного уровня активных форм кислорода, а также образованием и накоплением окисленных биомолекул [1]. Согласно свободнорадикальной теории, причиной нарушения функции клеток являются свободные радикалы – молекулы, в которых нет одного электрона, поэтому они становятся химически активными. Для защиты от избытка свободных радикалов требуются антиоксиданты. Уровни антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидазы) тесно связаны с клеточными ответами к различным окислительным стрессам. [2]. Свободнорадикальные реакции, протекающие в клеточных мембранах, ингибируют активность ключевых клеточных ферментов и инициируют липопероксидацию, что, в конечном счете, приводит к повреждению мембран, клеток и тканей и организма в целом [3]. Эндогенная антиоксидантная защита организма является недостаточной, чтобы предотвратить повреждение полностью. Применение экзогенных антиоксидантов нейтрализуют избыток свободных радикалов [3-5].

В настоящее время для поддержания функции организма широко используются средства, различные по структуре и механизму действия, но обладающие избирательным действием - геротопротекторы. Растения являются универсальным сырьем для получения множества биоактивных веществ, в том числе проявляющих антиоксидантную активность. Многие растения обладают лечебными свойствами при различных патологических состояниях организма и практически малотоксичны [6-8]. В связи с этим представляют интерес исследования препаратов, выделенных из растений, произрастающих на территории нашей республики, обладающих антиоксидантными и мембранопротективными свойствами [9-11].

Биохимический анализ крови является одним из наиболее популярных видов диагностики и является актуальной во всем мире, также биохимический анализ помогает обнаружить признаки явных и зарождающихся болезней в организме, которые протекают в скрытой форме [12, 13].

Целью работы было изучение влияния фитопрепарата на биохимические параметры сыворотки крови крыс разного возраста.

Материалы и методы исследования

Животные были разделены на 3 группы: 1 – молодые (1 мес.), 2 – взрослые (6 мес.) и 3 – старые (24 мес.). Эксперименты проведены в условиях *in vivo* на 30 крысах месячного, 20 крысах 6-ти месячного и 10-ти крысах 24-месячного возраста. Животным в течение 2-х недель вводили перорально фитопрепарат в дозе 200 мг/кг массы тела. Для получения фитопрепарата растительное сырье (листья облепихи, трава мяты перечной и корни копеечника забытого) после измельчения подвергнута экстракции 50% этанолом при комнатной температуре 20 часов в темноте. Экстракт затем центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин, супернатант концентрировали при 40°C. Сухой экстракт ресуспендировали 50% этанолом в концентрации 10 мг/мл.

Для получения сыворотки кровь центрифугировали в течение 10 мин при 1000g, после оседания форменных элементов собирали надосадочную жидкость, представляющую собой плазму крови. Определение биохимических показателей крови проводили на анализаторе Biochem SA, НТИ, США.

Результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и GraphPad Prism 5,01. С учетом критерия Фишера-Стьюдента зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Изменения по мере старения организма проявляются практически на всех уровнях организации организма. Исследования биохимических показателей сыворотки крови, которые отображают функциональную активность различных органов представлены в таблицах 1–3.

Таблица 1 – Исследование влияния фитопрепарата на биохимические параметры крови месячных крыс.

| | Единицы измерения | Контроль | Опыт |
|--|-------------------|-------------|--------------|
| АлАТ | Е/л | 32,9±1,6* | 30,1±0,9** |
| АлАТ | Е/л | 52,2±2,6* | 63,9±2,5* |
| Щелочная фосфатаза | Е/л | 117,1±5,8* | 123,6±4,9*** |
| Билирубин общий | мкмоль/л | 19,4±0,9* | 13,0±0,6** |
| Билирубин прямой | мкмоль/л | 0,9±0,05*** | 1,9±0,5** |
| Белок общий | г/л | 65±3,2* | 73±3,1* |
| Глюкоза | ммоль/л | 0,4±0,02*** | 2,5±0,01*** |
| Мочевая кислота | мкмоль/л | 140±6* | 101±3,9** |
| Холестерин | ммоль/л | 4,2±0,21** | 3,0±0,02* |
| Креатинин | мкмоль/л | 32,3±1,6* | 30,9±0,9*** |
| * p ≤ 0,05. ** p ≤ 0,005. *** p ≤ 0,001. | | | |

Из таблицы 1 видно, что при приеме фитопрепарата у крысят одномесячного возраста изменений биохимических параметров не выходило за пределы нормы. Известно, что молодому организму свойственен более высокий уровень обмена веществ. Показано, что в детском организме содержание общего билирубина, щелочной фосфатазы и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) несколько выше, чем во взрослом. У крысят, получавших фитопрепарат, понижался уровень билирубина в крови, тогда как другие параметры оставались практически неизменными.

Аналогичные результаты выявлены у половозрелых крыс (таблица 2). У половозрелых животных отмечена тенденция к повышению таких показателей, как содержание глюкозы, холестерина, общего белка, креатинина и мочевой кислоты, что, вероятно, связано с нарушением обмена веществ.

Таблица 2 – Исследование влияния фитопрепарата на биохимические параметры крови половозрелых крыс

| | Единицы измерения | Контроль | Опыт |
|--|-------------------|------------|--------------|
| АлАТ | Е/л | 35,1±1,5* | 29,4±1,4** |
| АсАТ | Е/л | 38,5±2,3* | 35,4±1,6** |
| Щелочная фосфатаза | Е/л | 90,9±5,3* | 56,6±2,03*** |
| Билирубин общий | мкмоль/л | 15,2±0,6* | 10,0±3,6* |
| Билирубин прямой | мкмоль/л | 8,5±0,3** | 6,0±1,8** |
| Белок общий | г/л | 70,5±3,* | 80,2±3,6* |
| Глюкоза | ммоль/л | 5,7±0,29** | 4,2±0,2*** |
| Мочевая кислота | мкмоль/л | 169,2±8,5* | 225,6±6,3* |
| Холестерин | ммоль/л | 2,4±0,15** | 3,5±0,15** |
| Креатинин | мкмоль/л | 91,0±5,9* | 77,7±2,5* |
| * p ≤ 0,05. ** p ≤ 0,005. *** p ≤ 0,001. | | | |

Уровень мочевой кислоты, характеризующий функцию почек, с возрастом повышается. Наблюдается увеличение значений показателей функций печени как АлАт, АсАт и щелочная фосфатаза, что говорит о нарушении деятельности печеночных клеток. Результаты экспериментов

по оценке действия разработанного фитопрепарата в условиях *in vivo* у старых крыс выявили, что при введении растительного препарата у животных наблюдается положительная динамика исследуемых биохимических показателей.

При анализе значений биохимических параметров крови у 24-месячных животных показан положительный эффект применения разработанной фитокомпозиции (таблица 3). Следует отметить, что у крыс, получавших фитопрепарат, достоверно снизился уровень билирубина, аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, креатинина, мочевой кислоты, свидетельствующих об улучшении функционального состояния гепатоцитов и клеток почек.

Таблица 3 – Исследование влияния фитопрепарата на биохимические параметры крови старых крыс.

| | Единицы измерения | Контроль | Опыт |
|--------------------|-------------------|-------------|-------------|
| АлАТ | Е/л | 56,5±2,8** | 23,8±1,2** |
| АсАТ | Е/л | 90,6±4,0* | 46,3±1,6*** |
| Щелочная фосфатаза | Е/л | 141,5±6,5* | 72,3±3,0*** |
| Билирубин общий | мкмоль/л | 29,6±1,3* | 23,8±1,1* |
| Билирубин прямой | мкмоль/л | 12,2±0,6* | 7,1±2,5*** |
| Белок общий | г/л | 93,9±3,8* | 82,0±4,1** |
| Глюкоза | ммоль/л | 8,2±0,3** | 3,7±0,2* |
| Мочевая кислота | мкмоль/л | 469,5±12,3* | 220,3±8,5* |
| Холестерин | ммоль/л | 11,6±0,45** | 6,3±0,28** |
| Креатинин | мкмоль/л | 211,2±9,6* | 64,4±3,1* |

* $p \leq 0,05$. ** $p \leq 0,005$. *** $p \leq 0,001$.

Результаты исследований показали, что при применении фитопрепарата имеет место улучшение обменных процессов, о чем можно судить по более низким значениям содержания глюкозы, холестерина и общего белка. В отличие от интактных крыс, биохимические показатели животных, получавших фитопрепарат, ниже и практически большинство из них соответствуют нормальным величинам.

Таким образом, можно предположить, что действие лекарственных растений направлено на нормализацию гомеостаза, повышению устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям, улучшению обменных процессов, стимуляцию регенеративных процессов, восстановлению физиологических функций органов и, следовательно, организма в целом.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Stadtman E.R. Role of oxidant species in aging // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 11, N 9. – P. 1105-1112.
- [2] Poljsak B., Suput D., Milisav I. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants // *J. Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 956792. 11 p.
- [3] Pinkus R., Weiner L.M., Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-kB, and glutathione S-transferase gene expression // *J.Biol.Chem.* – 1996. – Vol. 271, N 23. – P. 13422-13429.
- [4] Pincemail J., Ricour C., Defraigne J.O., Petermans J. Oxidative stress, antioxidants and the ageing process. *Rev Med Liege.* – 2014. – Vol. 69, N 5-6. – P. 270-275.
- [5] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2007. – Vol. 39, N 1. – P. 44-84
- [6] Arts I.C., Hollman P.Ch. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies // *Am J Clin Nutr.* – 2005. – Vol. 81, N 1. – P. 317S-325S.
- [7] Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability // *Am. J. Clin. Nutrition.* – 2004. – Vol. 79, N 5. – P. 727-747.
- [8] Аралбаева А.Н., Мурзахметова М.К. Роль лекарственных растений в жизни и здоровье человека // *Вестник КазНУ. Серия биологическая.* – 2011. – № 1(47). – С. 107-111.
- [9] Запарина О. Г., Абилкаиров С.И., Аралбаева А.Н., Тулеуханов С.Т., Мурзахметова М.К. Влияние фитопрепарата на состояние клеточных мембран и антиоксидантных ферментов при старении // *Вестник КазНУ. Серия экологическая.* – 2015. – № 2/1(44). – С. 326-331.

- [10] Жусупова Г.Е., Шалахметова Т.М., Мурзахметова М.К., Гадецкая А.В., Жусупова А.И. Антиоксидантная активность некоторых препаратов, полученных на основе растений Казахстана // Вестник Новосибирского гос. педагогического университета. – 2013. – № 5(15). – С. 43-65.
- [11] Zhussupova A.I., Gadeskaya A.V., Shalakhmetova T.M., Murzakhmetova M.K., Zhussupova G.E. Natural oxidants of plant origin (статья) // International Journal of Biology and Chemistry. – 2015. – Vol. 8, N 1. – С. 26-31.
- [12] Ermakova N.R. Dynamics of biochemical parameters of blood serum at gestosis // Saratov Journal of Medical Scientific Research. – 2009. – Vol. 5, N 1. – P. 54-56.
- [13] Nordoy E.S.; Thorensen S.I. Reference values for serum biochemical parameters // Vet Clin Pathol. – 2002. – Vol. 31, N 3. – P. 98-105.

REFERENCES

- [1] Stadtman E.R. Curr. Med. Chem. **2004** 11(9), 1105-1112 (in Eng.).
- [2] Poljsak B., Suput D., Milisav I. J. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. **2013**, 2013, 11 p. (in Eng.).
- [3] Pinkus R., Weiner L.M., Daniel V. J. Biol. Chem., **1996**, 271, 13422-13429 (in Eng.).
- [4] Pincemail J., Ricour C., Defraigne J.O., Petermans J., Rev Med Liege., **2014**, 69 (5-6), 270-5 (in Eng.).
- [5] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. Int. J. Biochem. Cell. Biol. **2007**; 39(1):44-84. (in Eng.).
- [6] Arts I.C., Hollman P.Ch., Am J Clin Nutr., **2005**, 81, 1, 317S-325S (in Eng.).
- [7] Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L. Am. J. Clin. Nutrition. **2004**, 79 (5), 727-747 (in Eng.).
- [8] Aralbaeva A.N., Murzahmetova M.K. Vestnik KazNU, serija biologicheskaja, **2011**. №1 (47). P. 107-111 (in Russ.).
- [9] Zaparina O.G., Abilkairov S.I., Aralbaeva A.N., Tuleuhanov S.T., Murzahmetova M.K. Vestnik KazNU. Serija jekologicheskaja, **2015**,2/1(44), 326-331 (in Russ.).
- [10] Zhussupova G.E., Shalakhmetova T.M., Murzahmetova M.K., Gadeckaja A.V., Zhussupova A.I., Vestnik Novosibirskogo gos.pedagogicheskogo universiteta, **2013**, 5(15), 43-65 (in Russ.).
- [11] Zhussupova A.I., Gadeskaya A.V., Shalakhmetova T.M., Murzakhmetova M.K., Zhussupova G.E. International Journal of Biology and Chemistry, **2015**, № 1, Vol. 8, P. 26-31. (in Eng.).
- [12] Ermakova N.R. Saratov Journal of Medical Scientific Research, **2009**, 5, 1, 54-56 (in Eng.).
- [13] Nordoy E.S., Thorensen S.I., Vet Clin Pathol, **2002**,31, 3, 98-105 (in Eng.).

ҚАРТАЮ КЕЗІНДЕГІ ҚАННЫҢ БИОХИМИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ ӨСІМДІК ПРЕПАРАТТЫҢ ӘСЕРІ

М. Қ. Мырзахметова¹, А. Н. Аралбаева², А. Т. Маматаева²,
Р. С. Өтеғалиева², Г. Т. Жаманбаева¹

¹Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы, Қазақстан,

²Алматы технологиялық университеті, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: қартаю, жас ұлғаюмен байланысты өзгерістер, қанның биохимиялық көрсеткіштері, фитопрепарат.

Аннотация. Жас ұлғайған сайын ағзаның органдары мен тіндерінде ауру мен өлімнің орын алу мүмкіндігінің артуына жағдай жасайтын өзгерістердің жинақталуы байқалады. Аталған қайтымсыз өзгерістер қартаю процестерін анықтайды. Өсімдік полифенолдары оңынан әсер етіп нейродегенеративті патологиялық процестерді және қартаюды тежейтіндігі анықталған. Демек, Қазақстан дәрілік өсімдіктерінен алынған сығындылардың қартаю барысында болатын өзгерістердің қарқанын азайтып, түрлі жас кезеңдерінде денсаулықты сақтау мақсатында пайдалану мүмкіндігін зерттеу өзекті мәселелердің бірі.

Зерттеу барысында фитопрепараттың түрлі жас топтарындағы егеуқұйрықтардың қан сарысуының биохимиялық көрсеткіштеріне әсері қарастырылды. Тәжірибелер *in vivo* жағдайында бір айлық 30, алты айлық 20, 24 айлық 10 егеуқұйрықтарға жасалды. Жануарларға 2 апта бойы пероралды жолмен дене массасына шаққанда 200 мг/кг мөлшерде фитопрепарат енгізіліп отырды. Фитопрепарат дайындау үшін шырғанақ жапырақтары, бұрыш жалбыз шөбі және ұмытылған тиынтақ тамыры пайдаланылды. Зерттеулер нәтижесінде фитопрепарат енгізілген тәжірибелік жануарлардың биохимиялық көрсеткіштерінің жақсарғандығы анықталды. Фитокомпозицияны пайдаланудың оң эффектісі 24 айлық егеуқұйрықтарда жоғары деңгейде көрінді. Препарат қабылдаған жануарлардың сарысуында билирубин, аминотрансферазалар, сілтілі фосфатаза, креатинин, несеп қышқылының мөлшері едәуір төмендеген, яғни бұл гепатоциттер мен бүйрек клеткаларының функционалды жағдайының артуының белгісі. Сонымен бірге қан құрамында глюкоза, холестерин және жалпы белок деңгейі төмендеді. Демек, фитокомпозицияны қартаю барысында ағзаның жалпы күйін жақсарту мақсатында профилактикалық шара ретінде пайдалануға болады.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 90 – 95

**EXPLORATION OF THE POSSIBILITY OF BIOLEACHING OF REE
FROM SAMPLES OF DIFFERENT ORES AND CONCENTRATES**

A. A. Otarbekova, R. E. Aitkulova, S. Sh. Lesbekova, A. M. Esimova, D. E. Kudasova

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

E-mail: dariha_uko@mail.ru

Key words: rare-earth elements, base metals, copper-molybdenum ore, phosphate ore, microflora.

Abstract. In the article it is considered opportunity of use of composition for biodiversity of microbe of rarely-land elements from polymetal, phosphorus and copper-molybdenum ore deposits of Kazakhstan. It is established that irrespective to ore type in bacterium-chemical solution contributes to increase of degree extraction of metals in a solution.

Intensive exploitation of the deposits will inevitably lead to their depletion, so that there is an urgent need for the development of natural and technogenic deposits with poor content or additional recovery of valuable components from mastered.

As object of research there were used polymetallic, copper-molybdenum, phosphorite ore, copper-molybdenum and polymetallic concentrates of some fields of Kazakhstan.

The results of preliminary studies showed that the viability of the use of bacterial-chemical leaching of REE from a number of ores and concentrates, it was found that optimization of conditions of life of selected iron and sulfur – oxidizing microflora allows to intensify the processes of extraction of metals into solution.

УДК 622.337.2.(043.2)

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ РЗЭ
ИЗ ОБРАЗЦОВ РАЗЛИЧНЫХ РУД И КОНЦЕНТРАТОВ**

А. А. Отарбекова, Р. Э. Айткулова, С. Ж. Лесбекова, А. М. Есимова, Д. Е. Кудасова

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан

Ключевые слова: редко-земельные элементы, полиметаллы, медно-молибденовые руды, фосфоритовые руды, микрофлоры.

Аннотация. В статье рассмотрена возможность использования состава для биологического разнообразия микроб редкоземельных элементов из полиметаллов, фосфора и медно-молибденовые руды месторождений Казахстана. Установлено, что независимо от типа руды бактериально-химический раствор способствует увеличению степени извлечения металла в раствор.

Интенсивное освоение месторождений неизбежно ведет к их истощению, вследствие чего возникает острая необходимость разработки природных и техногенных месторождений с бедным содержанием компонентов или доизвлечения ценных компонентов из освоенных.

В качестве объекта исследования были использованы полиметаллические, медно-молибденовые, фосфоритовые руды, медно-молибденовый и полиметаллический концентрат некоторых месторождений Казахстана.

Результаты предварительных исследований показали перспективность использования бактериально-химического выщелачивания РЗЭ из ряда руд и концентратов, при этом установлено, что оптимизация условий жизнедеятельности отселекционированной железо- и сероокисляющей микрофлоры позволяет интенсифицировать процессы извлечения металлов в раствор.

Введение. Общее мировое производство РЗЭ в 1980 составляло (без СССР) около 26 тыс. т, из них 11 тыс. т применялось в металлургии и производстве магнитов, 7 тыс. т. – в виде катализаторов и химикатов, 8 тыс. т. В виде стекла и керамики. Первым из РЗЭ открыт Y в 1794 Ю. Гадолином, открытие всех РЗЭ завершено к началу 20 в. В природе РЗЭ с четными атомными номерами распространены заметно больше, чем РЗЭ с нечетными номерами (рисунок 1).

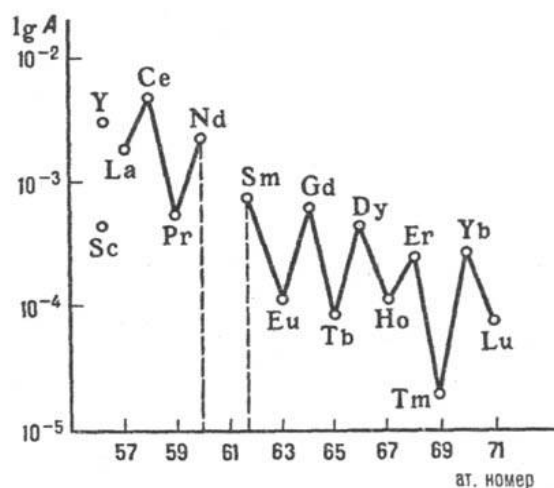


Рисунок 1 – Распределение РЗЭ в природе: А-содержание в земной коре, % по массе

Иттрий и легкие лантаноиды (кроме Pm) содержатся в земной коре в больших количествах, чем тяжелые. Наиболее распространены Ce ($4,61 \cdot 10^{-3}\%$ по массе), Y ($2,81 \cdot 10^{-3}\%$), Nd ($2,39 \cdot 10^{-3}\%$) и La ($1,83 \cdot 10^{-3}\%$), наименее – Tm ($2,0 \cdot 10^{-5}\%$), Lu ($7,5 \cdot 10^{-5}\%$) и Tb ($9,1 \cdot 10^{-5}\%$). Наиболее распространен в космосе Sc, затем Y, Ce, La, Nd, Gd и другие РЗЭ-природные спутники Ti, Zr, Hf, Nb, Ta, Th, U и некоторых других металлов. Известно большое количество минералов РЗЭ (по одним источникам, более 150, по другим – более 200), важнейшие из которых – бастнезит LnCO_3F , монацит LnPO_4 , ксенотим LnPO_4 . Первые два содержат легкие лантаноиды, ксенотим – Y и тяжелые лантаноиды. Промышленное значение имеют лопарит $(\text{Na,Ca,Ln})(\text{Ti,Ta,Nb})\text{O}_3$, апатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, эвксенит $\text{Ln}(\text{Nb, Ta})\text{TiO}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, гадолинит $(\text{Fe}^{2+}, \text{Be})_3 \times \text{Ln}_2\text{Si}_2\text{O}_{10}$, перспективны алланит $(\text{Ca, Fe}^{2+})_2 \times (\text{Ln, Al, Fe}^{3+})_3 \text{Si}_3\text{O}_{13}\text{H}$, перовскит CaTiO_3 , сфен $\text{CaTiSiO}_4(\text{O, OH, F})$, циркон ZrSiO_4 . РЗЭ содержатся в хвостах обогащения урановых руд (тяжелые лантаноиды и Y), во флюорите CaF_2 . Многие минералы РЗЭ радиоактивны из-за наличия в них U, Th и продуктов их распада[1]. РЗЭ бастнезита состоят на 27-32% из La, 49-50% Ce, 4-5% Pr, 13-15% Nd, 0,5-1,0% Sm, 0,1-0,2% Eu и 0,3-0,4% Gd; общее содержание Ln_2O_3 73-76%. Месторождения бастнезита имеются в США, КНР, Бурунди и Швеции. Монацит содержит 42,3-66,9% Ln_2O_3 цериевой группы и 0,5-4,8% иттриевой группы; относит, кол-ва: 19-23% La, 44-46% Ce, 5-6% Pr, 18-20% Nd, 4-5% Sm, 2-3% Y, 2% Gd и 1,5-2,0% др. РЗЭ, 5-10% ThO_2 . Монацит добывают в Бразилии, Индии, Австралии и Малайзии, он имеется также на Мадагаскаре, в Малави и др. Ксенотим содержит 51,9-62,6% Ln_2O_3 иттриевой группы, 0,3-4,6% цериевой группы и по ~ 3% U_3O_8 и ThO_2 .

В СНГ важные источники РЗЭ – лопарит (30,7-34,1% Ln_2O_3 цериевой группы) и иттропаризит – сложный фторокарбонат, ассоциированный с монацитом, ксенотимом, флюоцеритом и другими минералами. Общие промышленные мировые запасы РЗЭ в виде оксидов, кроме Y, составляют (без СНГ) около 33 млн. т (1980)[2].

Методы исследования. Для переработки руды, содержащих минералы РЗЭ, обычно подвергают гравитационному обогащению для выделения тяжелых минералов – монацита, ксенотима, эвксенита и других. Монацит из смеси с другими минералами выделяют сочетанием гравитационного, электромагнитного и электростатических методов. Для индийского монацита применяют также флотацию. Обогащение калифорнийской бастнезитовой руды (7-10% оксидов РЗЭ) осуществляют флотацией, растворением CaCO_3 в 10%-ной соляной кислоте, обжигом для удаления CO_2 и перевода Ce^{3+} в Ce^{4+} , доводя концентрацию оксидов РЗЭ до 85%.

Химическая переработка рудных концентратов включает выщелачивание, отделение радиоактивных примесей, выделение химических концентратов РЗЭ (загрязненные оксиды, оксалаты, фториды, хлориды, сульфаты и др.), разделение самих РЗЭ и получение металлов. Для выщелачивания применяют кислоты или щелочь. Щелочную переработку монацита и ксенотима часто проводят в автоклавах при 140-150 °С с использованием 70%-ного раствора NaOH. Осажденные гидроксиды Th, U и РЗЭ растворяют в соляной или азотной кислоте, частичной нейтрализацией раствора вновь осаждают гидроксиды Th и U, а полной нейтрализацией – гидроксиды РЗЭ. Раствор хлоридов РЗЭ после осаждения Th и U иногда выпаривают с выделением концентрата или направляют на разделение РЗЭ [3].

Кислотный способ предусматривает сульфатизацию монацита избытком концентрированной H_2SO_4 при 200-250 °С, выщелачивание растворимых сульфатов Th и РЗЭ водой, осаждение Th и последующее осаждение РЗЭ в виде комплексных солей действием Na_2SO_4 (осаждаются РЗЭ цериевой группы) или в виде оксалатов действием щавелевой кислоты. Комплексные сульфаты обрабатывают раствором NaOH, а затем растворяют в соляной кислоте. Бастнезитовые концентраты выщелачивают соляной кислотой, из нерастворимого остатка выделяют цериевый концентрат, а раствор используют для получения индивидуальных РЗЭ. Апатитовые концентраты разлагают концентрированной HNO_3 , добавлением в раствор $NaNO_3$ осаждают SiO_2 и Na_2SiF_6 , частичной нейтрализацией раствора аммиаком осаждают фосфаты РЗЭ. Лопаритовые, бастнезитовые и эвксенитовые концентраты перерабатывают также хлорированием. Их брикетируют с коксом и обрабатывают Cl_2 при 800-1200 °С. Нелетучие хлориды используют для получения мишметалла (сплава РЗЭ) или растворяют в воде и направляют на разделение РЗЭ.

Для разделения РЗЭ и очистки их от примесей применяют осадительные методы, селективное окисление или восстановление, ионообменную сорбцию и жидкостную экстракцию. Осадительные методы (выделение гидроксидов, оксалатов и др.) используют для очистки при получении концентратов РЗЭ, селективное окисление – для отделения Ce, реже – Pr и Tb, селективное восстановление – для отделения Ee (обычно в виде нерастворимого $EuSO_4$), реже – Sm и Yb.

Основной метод получения чистых РЗЭ в начале 50-х гг.-ионообменная сорбция, с середины 60-х гг. – экстракция. Сорбцию сначала использовали в периодическом варианте, а впоследствии для получения концентратов стали применять и непрерывные методы сорбционного разделения. Коэффициенты разделения соседних РЗЭ обычно не превышают 1,5-3,0. Для разделения используют трибутилфосфат (коэффициент разделения соседних РЗЭ 1,3-1,6 в HNO_3), ди-(2-этилгексил)-фосфорную кислоту (коэффициент разделения 1,6-3,2 в HCl), другие алкил-фосфаты. Перспективно применение карбоновых кислот и аминов с использованием экстракционных каскадов с десятками ступеней разделения. В промышленной практике для разделения преимущественно используют фосфорорганические экстрагенты – ТБФ, Д2ЭГФК и карбоновые кислоты. Разделение основано на закономерном изменении значений коэффициентов распределения в ряду лантаноидов. В промышленной практике разделение РЗЭ экстракцией ТБФ большей частью осуществляют из азотнокислых растворов, содержащих нитраты РЗЭ. РЗЭ хорошо экстрагируется ТБФ также из слабокислых нитратных растворов в присутствии высаливателей – нитратов алюминия, натрия, кальция, лития [4].

В исследованиях Валькова А.В. и Сергиевского В.В. рассмотрены особенности извлечения РЗЭ, содержащихся в апатитах Кольского полуострова применительно к потребностям атомной энергетики РФ [5]. Предлагаемая авторами технологическая схема ориентирована на получение ряда продуктов: 80-90%-ного концентрата церия, азотнокислых растворов цериевых земель, оксидов европия, гадолиния и эрбия, а также сумму оксидов элементов иттриевой группы. Концентрат церия и азотнокислые растворы цериевых земель могут быть реализованы на предприятиях, производящих полирит, редкоземельную лигатуру и катализаторы для нефтехимии. В общем объеме реализации продукции цериевая группа занимает 30-40%, оксид европия занимает 25-35%, оксиды гадолиния и эрбия – 10-15%, оксиды элементов иттриевой группы – 20-30%.

Известен российский проект по гидрометаллургической переработке фосфогипса на сульфат натрия, карбонат кальция, соединения редкоземельных элементов и углекислый стронций [6]. В проекте используется найденное решение по выщелачиванию редкоземельных элементов из твердых остатков в раствор кислотами низких концентраций (5-6 %) против известных предложений, в

которых применяют для выщелачивания концентрированные растворы кислот (30-70 %). Найденное решение позволяет извлекать РЗЭ на 96-98 %, в то время как в известных способах выщелачивание РЗЭ из фосфогипса не превышает 50 %. Разработанный способ упрощает технологический передел стадии извлечения редкоземельных элементов и значительно снижает расход кислоты.

Кроме того, изучена возможность концентрирования редких и РЗЭ при кислотном и щелочном выщелачивании зольных уносов теплоэлектростанций [7], при этом спектральным полуколичественным анализом в зольных уносах установлено присутствие, г/т: лития – 20, ниобия – 20, бериллия – 5, галлия – 15, титана – 10000, циркония – 500, гафния – 20, скандия – 15, лантана – 100, иттрия – 70, иттербия – 7. Полученные данные показывают высокую ценность зольных уносов: содержание Y, Yb практически равно порогу ценности (минимальное содержание, определяющее возможную промышленную значимость [8]), Zr приближен к нему, а Ti превышают его. Результаты кислотного выщелачивания показали, что в ряде опытов с различными условиями получены близкие значения, предпочтение следует отдать опыту с более мягкими параметрами: $S_k = 50$ г/л, т:ж = 1:40, $t = 1,15$ ч, $t = 65$ С, $n = 250$ об/мин. В этом опыте кек обеднен титаном (4000 г/т при 10000 г/т в зольных уносах), иттрием (40 г/т) и иттербием (4 г/т). Примерное извлечение титана равно 30 – 50 %, иттрия и иттербия – 40-50 %. При щелочном выщелачивании ($S_k = 56$ г/л, т:ж = 1:50, $t = 2,5$ ч, $t = 80^0$ С, $n = 300$ об/мин) наблюдается обеднение кека иттрием (20 г/т) и иттербием (2 г/т).

Известно изобретение, направленное на повышение извлечения скандия и редкоземельных элементов, снижение потерь кислоты и удешевление способа [9]. Это достигается использованием в качестве шлакообразующего компонента карбоната бария, выщелачиванием шлака водой с отделением концентрата скандия и редкоземельных элементов и обработкой полученного фильтра производственным маточным раствором глиноземного производства с отделением барий-содержащего осадка и возвратом его на обжиг.

В настоящее время существует хорошо известная технология – биовыщелачивание металлов, позволяющая извлекать металлы из бедных руд дешевым способом, а именно с применением различных железо- и сероокисляющих бактерий [10]. Эти бактерии разрушают металлсодержащие минералы, окисляя минеральные сульфиды до серной кислоты, таким образом, металлы переводятся из минералов в раствор. Для применения этого метода требуется минимальное количество людей. Биовыщелачивание применялось для обработки не только рудных залежей, но и горных отвалов и горных пород со следовыми количествами дорогостоящих металлов (например, урана). Однако промышленное применение такой технологии связано с серьезными проблемами: 1) некоторые руды содержат химические элементы (Cu, Ni и другие), ингибирующие классических тионовых бактерий, каковые принадлежат к строгом ацидофильным микроорганизмам (*Acidithiobacillus ferrooxidans*, *A.thiooxidans* и *Leptospirillum ferrooxidans*), 2) эти бактерии недолго живут в результате изменений pH, происходящих из-за взаимодействия с минеральным окружением. Биовыщелачивание может увеличить производство РЗЭ за счет обработки очень бедных руд и горных отвалов. Однако информация об использовании биотехнологий в выщелачивании РЗЭ чрезвычайно малочисленна.

Целью настоящей работы было изучение возможности биовыщелачивания РЗЭ из представительных образцов различных руд и концентратов.

В качестве объекта исследования были использованы полиметаллические, медно-молибденовые, фосфоритовые руды, медно-молибденовый и полиметаллический концентрат некоторых месторождений Казахстана. При выщелачивании РЗЭ было использовано перколяционное серно-кислотное (5,0 г/л H_2SO_4) и бактериально-химическое выщелачивание при соотношении Т:Ж=1:3-5. Продолжительность выщелачивания 1,3 и 5 суток при температуре 22-25⁰С. При биовыщелачивании была использована композиция микроорганизмов, состоящая из культур КМ1, БИА1, БИА2.

Выводы. В результате проведенных исследований было установлено, что при суточной экспозиции степень извлечения РЗЭ из полиметаллических руд незначительна, в продуктивном растворе после биовыщелачивания появляются следы La, Ce, Pr, Sm, Gd, Tb, Dy, Er, Yb. В аналогичных условиях, при биовыщелачивании медно-молибденовой руды содержание РЗЭ в продуктивном растворе составило, мг/л: La – 0,052; Ce -0,084; Pr -0,0098; Sm -0,0086; Gd – 0,0091; Tb – 0,013; Dy – 0,0071; Ho – 0,0014; Er – 0,0044; Yb- 0,0032, по сравнению с серно-кислотным

вариантом, где содержание их колебалось от $8,2E-05$ до $3,200E-4$ в зависимости от элемента. Увеличение продолжительности экспозиции до 3 и 5 суток способствовало адаптации микроорганизмов к ионам токсичных металлов, вследствие чего отмечено повышение содержания ряда РЗЭ в растворе. Так, в результате пятисуточной экспозиции медно-молибденовой руды в варианте с биовыщелачиванием степень извлечения металлов в раствор превысило показатели контрольного варианта с использованием серно-кислотного выщелачивания в несколько раз (рисунок 2). Данная закономерность сохраняется и в вариантах с биовыщелачиванием медно-молибденового концентрата и фосфоритовой руды (рисунок 3). Полиметаллические руды, вероятно, из-за непредставительности проб, оказались непригодными для извлечения РЗЭ.

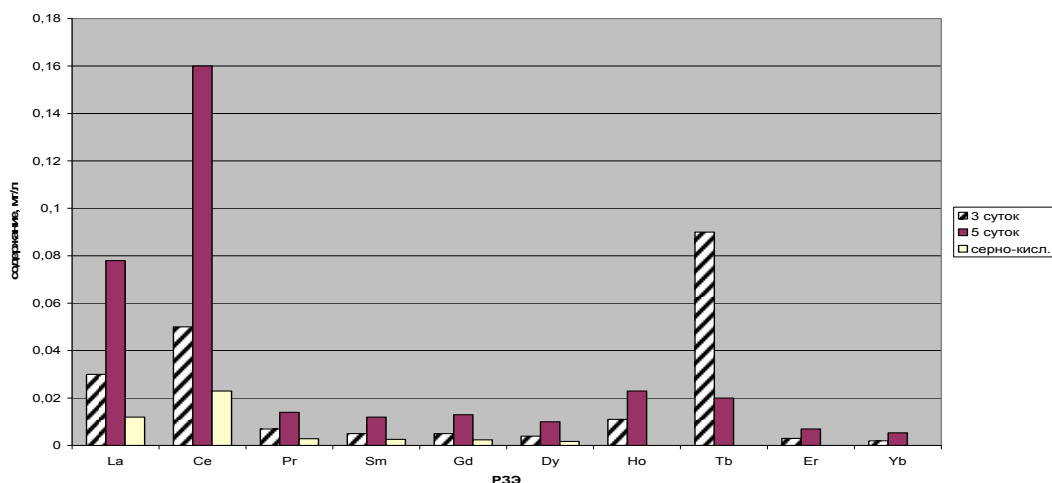


Рисунок 2 – Результаты биовыщелачивания РЗЭ из медно-молибденовой руды

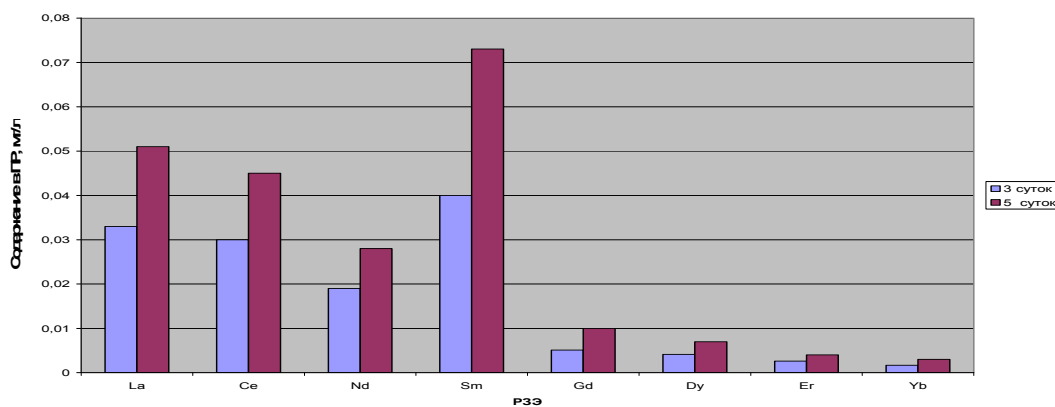


Рисунок 3 – Результаты биовыщелачивания РЗЭ из фосфоритовой руды

Таким образом, результаты предварительных исследований показали перспективность использования бактериально-химического выщелачивания РЗЭ из ряда руд и концентратов, при этом установлено, что оптимизация условий жизнедеятельности отселекционированной железо- и сероокисляющей микрофлоры позволяет интенсифицировать процессы извлечения металлов в раствор.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Добыча и производство редких металлов. – М.: Прогресс, 2008. – 216 с.
- [2] В. Щербан С.А., Баланцева В.М., Садыков Ж. Способ извлечения скандия и РЗЭ из красного глиноземного производства // АС СССР N 1321089, кл. С 22 В 59/00, 1996. АС СССР N 1238399, кл. С 22 В 59/00, 1998. АС СССР N 1464493, кл. С 22 В 59/00, 1997.
- [3] Бызеев В.К., Тен В.Н. Теоретические основы комплексной скважинной разработки горючих сланцев с получением энергоносителей и металлов // Горный вестник Узбекистана. – 2006. – № 24. – С. 54-59.

- [4] Шпирт М.Я. Формы соединения микроэлементов и их превращения при переработке твердых полезных ископаемых // Химия твердого топлива. – 2004. – № 6. – С. 81.
- [5] Вальков А.В., Сергиевский В.В. Кольские апатиты как редкоземельное сырье для атомной энергетики // Цветные металлы. – 2006. – № 3. – С. 16.
- [6] Мязин П., Куклина Г.Л., Мязина В.И., Ихисоева И.П. Исследование процессов концентрирования редких и редкоземельных элементов при кислотном и щелочном выщелачивании зольных уносов теплоэлектростанций // Материалы Н. К. Перспективы развития химической переработки горючих ископаемых (ХПГИ – 2006). – 2006. – С. 118.
- [7] Угольная база России. – Т. IV. Угольные бассейны и месторождения Восточной Сибири / Под ред. В. Ф. Череповского. – М.: ЗАО Теоинформмарк, 2001. – 493 с.
- [8] Мязина В.И. Эколого-технологическая оценка золошлаковых отходов тепловых электростанций Восточного Забайкалья: Дис. ... к.т.н. – Чита, 2004. – 22 с.
- [9] Ценные и токсичные элементы в товарных углях России: Справочник. – М.: Недра, 1996. – 235 с.
- [10] Камалов М.Р. Роль микроорганизмов в извлечении металлов из руд месторождений Казахстана. – Алма-Ата: Галым, 1990. – 256 с.

REFERENCES

- [1] Dobycha I proizvodstvo redkih metallov. M.: Progress, 2008. 216 p.
- [2] V. Shherban S.A., Balanceva V.M., Sadykov Zh. Sposob izvlechenija skandija I RZJe iz krasnogo glinozemnogo proizvodstva // AS SSSR N 1321089, kl. C 22 B 59/00, 1996. AS SSSR N 1238399, kl. C 22 B 59/00, 1998. AS SSSR N 1464493, kl. C 22 B 59/00, 1997.
- [3] Byzeev V.K., Ten V.N. Teoreticheskie osnovy kompleksnoj skvazhinnoj razrabotki gorjuchih slancev s polucheniem jenergonositelej I metallov//Gornyj vestnik Uzbekistana, 2006. N 24. P. 54-59.
- [4] Shpirt M.Ja. Formy soedinenija mikrojelementov I ih prevrashhenija pri pererabotke tverdyh poleznyh iskopaemyh // Himija tverdogo topliva. 2004. N 6. P. 81.
- [5] Val'kov A.V., Sergievskij V.V. Kol'skie apatity kak redkozemel'noe syr'e dlja atomnoj jenergetiki // Cvetnye metally. 2006. N 3. P. 16.
- [6] Mjazin P., Kuklina G. L., Mjazina V. I., Ihisoeva I. P. Issledovanie processov koncentrirovaniya redkih redkozemel'nyh jelementov pri kislotnom I shhelochnom vyshhelachivanii zol'nyh unosov teplojelektrostantsij// Materialy N.K. Perspektivy razvitija himicheskoj pererabotki gorjuchih iskopaemyh (HPGI – 2006). 2006. P. 118.
- [7] Ugol'naja baza Rossii. T. IV. Ugol'nye bassejny I mestorozhdenija Vostochnoj Sibiri / Pod red. V. F. Cherepovskogo. M.: ZAO Teoinformmark, 2001. 493 p.
- [8] Mjazina V.I. Jekologo-tehnologicheskaja ocenka zoloshlakovyh othodov teplovyh jelektrostantsij Vostochnogo Zabajkal'ja: Dis. ... k.t.n. Chita, 2004. 22 p.
- [9] Cennye I toksichnye jelementy v tovarnyh ugljah Rossii: Spravochnik. M.: Nedra, 1996. 235 s.
- [10] Kamalov M.R. Rol' mikroorganizmov v izvlechenii metallov iz rud mestorozhdenij Kazahstana. Alma-Ata: Galym, 1990. 256 p.

**ӘРТҮРЛІ КЕНДЕР МЕН КОНЦЕНТРАТТАР ҮЛГІЛЕРІНЕН СЖӘ
БИОСІЛТІСІЗДЕНДІРУДІҢ МҮМКІНДІКТЕРІН ЗЕРТТЕУ**

А. А. Отарбекова, Р. Э. Айтқұлова, С. Ж. Лесбекова, А. М. Есимова, Д. Е. Кудасова

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

Түйін сөздер: сирек-жер элементтері, полиметалл, мыс-молибденді кендер, фосфоритті кен, микрофлора.

Аннотация. Мақалада Қазақстан кен орындарындағы полиметалды, фосфоритті және мыс-молибденді кендерді микроағзалар композициясы көмегімен сирек кездесетін металдарын биосілтідендірудің қолдану мүмкіндігі қарастырылған. Руданың түріне байланысты, оның бактериалды-химиялық ерітіндідегі мерзімін ұлғайту арқылы, ерітінді құрамындағы металлдарды бөліп алудың мүмкіндігін жоғарылатады.

Кендерді қарқынды қолдану кендердің тез тозуына әсер етеді, нәтижесінде құраушылардың аз қоры бар немесе өндірілгендердің өндіруге дейінгі бағалы құраушыларын табиғи және техногенді қазбалардың қажеттілігі пайда болады.

Зерттеу нысаны ретінде Қазақстандағы кейбір кен орындарының полиметалл, мыс-молибденді, фосфоритті кендері, мыс-молибденді және полиметалл концентраты қолданылады.

Жүргізілген зерттеулер нәтижелері көрсеткендей, бірқатар кендер мен концентраттардан сирек-жер элементтерін бактериалды-химиялық сілтілендіруді қолданудың келешегі зор, онда анықталғандай, селекционерленген темірмен күкіртті тотықтыратын микрофлора тіршілігінің жағдайларын оптимизациялау металдарды ерітіндіге бөлу процесін қарқынды жүргізуге мүмкіндік береді.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 96 – 106

**METHODOLOGICAL PROBLEMS
OF ECOLOGICAL AND BIOLOGICAL RESEARCHES (EBR)
OF THE CASPIAN SEA**

L. H. Seydaliyeva¹, A. F. Sokolsky², I. V. Volkova³

¹Caspian State University of Technology and Engineering named after Yesenov, Aktau, Kazakhstan,

²Astrakhan State University of Civil Engineering, Russia,

³Astrakhan State Technical University, Russia.

E-mail: leilaaktau71@mail.ru

Keywords: ecological and biological research, method of complex estimation, ecosystem of the Caspian, biota of the Caspian, bacterioplankton, zoobenthos.

Abstract. In this article authors made an effort in complex considering the problem of organization of ecological and biological researches (EBI), conducted in the Caspian region. Raising of this task proves to be correct from one side that meaningfulness of region is increased (including taking into account expansion of booty of fuel and energy resources), and from the other – by the necessity of rational expense of facilities and efforts during the leadthrough of researches in a region. Thus basic attention is spared forming of approach of the systems and of bases such.

Fast computers productivity growth and, especially, media containers actually removed the database size limit problem. However, the question remains the effectiveness of selective access to information in large databases and poorly structured data such as arrays of scientific publications in electronic form.

Using databases such as "indexing" storage units approach allows for the possibility of setting they belong to multiple groups and subgroups of classification information.

For information purposes of analysis and forecasting processes it can be applied various mathematical methods.

Possible approaches to planning and comprehensive assessment of the results of ecological and biological research, forecasting environmental processes. For this decision: the transition from a one-year research plan to one year's 2-3; "Incomplete conducting" research at individual points (eg, less "deep" analysis of zooplankton samples) and so forth. In general, the plan of distribution of research points can be dynamic and change from year to year. In practice, in one set of organization studies point is usually fixed for a number of years - to ensure comparability of results.

The complexity of the methods of integrated assessment of the environmental situation and its dynamics can generally be determined by the following factors: the diversity of sources of information and time difference time of the study; differences in methods used (including in research by various organizations); incompleteness of information used for the evaluation and so on.

Forecasting in the ecological and biological research is now done using the following approaches: based on the analysis of time series; using regression equations derived from the experimental data; simulation of processes and systems. When forecasting usually take into account previously allocated: a long-term trend; cyclical fluctuations in indicators (especially annual); statistical relationships of individual indicators, and so on.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ (ЭБИ) КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Л. Х. Сейдалиева¹, А. Ф. Сокольский², И. В. Волкова³

¹Каспийский государственный университет технологий и инжиниринга им. Ш. Есенова, Актау, Казахстан,

²Астраханский государственный архитектурно-строительный университет, Россия,

³ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», Россия

Ключевые слова: эколого-биологическое исследование, метод комплексной оценки, эколого-биологическое исследование, экосистема Каспия, бактериопланктон, биота Каспия, зообентос.

Аннотация. В статье авторы попытались комплексно рассмотреть проблему организации эколого-биологических исследований (ЭБИ), проводимых в Каспийском регионе. Постановка этой задачи оправдывается, с одной стороны, тем, что значимость региона увеличивается (в т.ч. с учетом расширения добычи топливно-энергетических ресурсов), а с другой – необходимостью рационального расходования средств и усилий при проведении исследований в регионе. При этом основное внимание уделяется формированию системного подхода и обоснованию теоретико-математических основ такого подхода.

Быстрый рост производительности ЭВМ и особенно емкостей носителей информации фактически снял проблемы ограничения объемов БД. Однако остаются актуальными вопросы эффективности обеспечения селективного доступа к информации в больших БД и к плохо структурированной информации типа массивов научных публикаций в электронной форме.

Использование в БД подходов типа "индексации" единиц хранения информации позволяет обеспечить возможность задания их принадлежности сразу нескольким классификационным группам и подгруппам информации.

Для целей анализа информации и прогнозирования процессов могут применяться различные математические методы.

Возможны подходы к планированию и комплексной оценке результатов ЭБИ, прогнозированию экологических процессов. Для этого приняты решения: переход от одногодичного планирования исследований к 2-3 годичному; "неполное проведение" исследований в отдельных точках (например, менее "глубокий" разбор проб зоопланктона) и пр. В общем случае планирование распределения точек исследований может быть динамическим и меняться от года к году. На практике в рамках одной организации совокупность точек исследований обычно фиксируется на ряд лет - для обеспечения сопоставимости результатов.

Сложность методов комплексной оценки экологической ситуации и ее динамики в общем случае может определяться следующими факторами: разнородность источников информации и разновременность моментов проведения исследований; различия в используемых методиках (в том числе при проведении исследований различными организациями); неполнота информации, используемой для оценки и пр.

Прогнозирование в ЭБИ осуществляется с использованием следующих подходов: на основе анализа временных рядов; с применением регрессионных уравнений, полученных на основании экспериментальных данных; имитационного моделирования процессов и систем. При прогнозировании обычно учитывают выделенные ранее: многолетний тренд; циклические колебания показателей (прежде всего годовые); статистические взаимосвязи отдельных показателей и пр.

Введение. Можно считать, что основной целью ЭБИ Каспийского моря является информационно-техническая поддержка принятия решений, направленных на обеспечение рационального природопользования в регионе с учетом роста техногенной нагрузки [1] и изменения природно-климатических условий.

В более общем плане ЭБИ являются необходимым элементом комплексной системы управления [17], социально-экономическим развитием Каспийского региона. С позиций теории управления [12] можно считать, что результаты ЭБИ представляют собой "сигнал обратной связи" в системе управления экологическим состоянием Каспия, регулирования техногенной нагрузки на нее.

Отсюда вытекает ряд задач, направленных на достижение этой цели: определение состава информации, необходимой для поддержки принятия объективных и своевременных решений; оценка необходимых характеристик для данных ЭБИ (точность, периодичность, пространственная

привязка и пр.); подбор рациональных источников и методов получения информации с учетом существующих ресурсных ограничений; систематизация и всесторонний анализ этих данных [15], включая применение математических и иных методов [7]; использование существующих и разработка новых методов интегральной оценки [14] экологического состояния экосистемы Каспия и ее отдельных районов; прогнозирование развития эколого-биологических процессов на Каспии, в том числе в рамках поддержки принятия упреждающих решений; выработка рациональных решений, связанных с проведением исследований, оценкой экологической ситуации [16] и ее прогнозированием; координация принимаемых решений по проведению исследований и природопользованию на различных уровнях; управление реализацией принимаемых решений, внесение в них корректив по ходу выполнения. Каждая из перечисленных задач имеет свои особенности, включая ресурсные ограничения различных типов. Часть этих задач анализируется ниже.

Общие характеристики данных экологических исследований. В теории принятия решений [11, 15, 19] обосновывается, что информация, имеющаяся в распоряжении лиц, принимающих объективные решения, должна быть адекватна важности (ответственности) и сложности самих решений. Слишком узкая номенклатура данных в общем случае будет приводить к ухудшению качества решений, а слишком широкая - неоправданно увеличивать стоимость информационной поддержки и в общем случае затруднять принятие решений.

С общеметодологических позиций применительно к рассматриваемой в разделе проблематики важнейшими характеристиками информации являются: актуальность – с учетом времени, затрачиваемого на проведение исследований и их обработку; достоверность (определяемая, в том числе, и корректной методологией проведения исследований); достаточно полный пространственный охват исследуемой территории; периодичность (частота) регулярных исследований; объемы данных, получаемых в результате исследований; точность результатов, получаемых в количественной форме.

Требования к некоторым из перечисленных выше параметров носят взаимно противоречивый характер. Так, увеличение объемов собираемой эколого-биологической информации обычно приводит к увеличению длительности ее обработки и, как следствие, снижению актуальности.

Повышение точности результатов исследований (например, "глубины" классификации при анализе проб фитопланктона) ведет к увеличению трудоемкости обработки и задержке получения результатов. Это может приводить к снижению количества обрабатываемых проб, сокращению числа мест проведения исследований.

Таким образом, здесь возникают многопараметрические задачи принятия оптимальных решений [5, 19], в том числе для многосвязных областей допустимых решений (с учетом того, что могут быть выбраны альтернативные методы исследований).

В общем случае можно считать, что оптимальным в отношении абсолютной величины "полезности" является m -ое решение в отношении проведения исследований, для которого имеет место

$$\max_m \left(Q_m = \sum_{i=1}^{I_m} (P_{i,m} - Z_{i,m}) \right), \quad (1.1)$$

где Q_m - оценка "полезности" m -го решения; I_m - количество видов исследований для m -го варианта; $P_{i,m}$ и $Z_{i,m}$ - положительный эффект (ПЭ) и затраты, относящиеся к i -ому виду исследований в m -ом варианте. На практике такой подход может осложняться тем, что "полезность" исследований может быть существенно различной для разных групп потребителей их результатов. Отметим еще, что в общем случае ПЭ может включать в себя величину предотвращенного ущерба.

Материалы и методы исследований

Источники информации и состав экологических исследований. Основными источниками информации, для поддержки принятия решений, связанных с природопользованием в Каспийском регионе, могут быть: опубликованные литературные данные (научные публикации, статистические сборники и пр.) по результатам уже выполненных ранее исследований, сбора статистического материала и т.п.; неопубликованные данные по уже сделанным исследованиям, включая "открытые"

и секретные данные, данные "для служебного пользования" и представляющие собой "коммерческую тайну" [10]; данные, взятые из средств массовой информации и Интернета; компьютерные базы данных, в том числе на лазерных дисках; данные собственных исследований научных работников (в том числе полевых работ, лабораторных экспериментов, имитационного моделирования).

В ряде случаев достаточен лишь сбор информации из открытых источников и их систематизация (преимущества - дешевизна и высокая скорость получения результатов, недостатки - неполнота информации, недостаточно высокая точность и пр.). Однако часто необходимо проведение полевых исследований, что требует достаточно трудоемких и дорогостоящих операций, а также значительных ресурсов календарного времени.

Традиционно на Каспии выполняется большой объем экологических исследований. Упомянем здесь, прежде всего, такие *виды исследований*: гидрометеорологические наблюдения (включая наземные территории, примыкающие к Каспию); исследования температурного режима Каспийского моря; изучение процессов льдообразования и таяния льда на севере Каспия; изучение циркуляции течений, в т.ч. их изменчивости по сезонам года и в зависимости от величины объемов паводков на реках; гидрохимические исследования водной среды устья реки Волги, Урала, Терека и других рек Каспия на различных участках; исследования загрязненности грунтов – особенно в Северном Каспии; исследования бактериопланктона, фито- и зоопланктона; изучение бентоса; исследования медуз, рыб и др.; изучение млекопитающих (тюлень); токсикологические исследования по различным направлениям, в том числе в путем использования биотестирования [12].

К дистанционным методам относятся, прежде всего: аэрофотосъемка и космическая съемка (включая многозональную и в ИК-диапазоне); радиолокационное зондирование поверхности моря с самолетов и спутников. При этом радиолокационное зондирование может использоваться и для определения поверхностных загрязнений моря.

Отметим еще направления исследований, непосредственно связанные с природопользовательской деятельностью в регионе: определение фактических уровней добычи рыбы и млекопитающих (включая вероятные оценки браконьерской добычи); загрязнение водной среды за счет транспорта, стока рек, переноса загрязнений с окружающих территорий воздушными массами и пр.; влияние дноуглубительных работ (порты, каналы и пр.) на состояние водной среды и его обитателей; возможное влияние геологоразведочных работ на акватории Каспия на экосистему; возможное загрязнение водной среды Каспия при разработке топливно-энергетических ресурсов, залегающих под дном Каспия (при добыче и транспортировке).

Построение имитационных компьютерных моделей в сфере экологии [13] обычно осуществляется с использованием экспериментально-статистических данных и некоторых теоретических представлений. Такие модели могут использоваться для уточнения характера протекания процессов в экосистеме Каспийского моря и для целей прогнозирования, в том числе в рамках предполагаемой реализации различных сценариев развития событий.

Попыток создания моделей экосистемы Каспия было уже много, при этом задачи теплообмена моделировались достаточно успешно. В то же время комплексные модели процессов, связанных с биотой Каспия, часто давали неточные или даже неадекватные результаты - это связано с объективной сложностью протекающих процессов, неполнотой знаний о них и сложностями алгоритмизации выявленных механизмов функционирования биоты.

Укажем основные *типы организаций*, проводящих ЭБИ на Каспии: академические и рыбохозяйственные организации. Для России это, прежде всего, институты ВНИРО (Москва), КаспНИРХ (Астрахань), Южный научный центр РАН (Ростов), Институт океанологии РАН (Москва).

После распада СССР и появления на Каспии таких самостоятельных государств, как Казахстан, Туркмения и Азербайджан, в них также были созданы научно-исследовательские структуры, ориентированные на изучение Каспия. Отметим также важное значение исследований, связанных с Каспием, сотрудников учебных университетов прикаспийских государств, включая расположенные в г.Астрахани (Государственный университет и Государственный технический университет); природоохранные организации; подразделения топливно-энергетических компаний (включая добывающие и транспортные компании); неправительственные (общественные) организации, включая экологические движения и пр.

В результате проводимых исследований (наблюдений) накапливаются большие объемы данных, в том числе хранимые как базы данных (БД) [20]. Авторские права на БД (в том числе имущественные) регулируются частью 4-ой Гражданского Кодекса РФ (ГК РФ). Однако используемое в ней толкование БД отличается от такового, принятого в сфере информационных технологий [4]. В частности, ИТ-специалисты обычно считают, что программные средства (ПС), обеспечивающие работу с БД, входят в нее. В то же время по ГК РФ "программы для ЭВМ" это - отдельный объект авторского права.

В юридической литературе (например, [3]) отмечается, что БД сейчас охраняются не только авторским правом (как составные произведения), но и как объекты смежных прав (ст.1333-1336 ГК РФ). В последнем случае предоставляемая БД "...охрана не зависит от наличия или отсутствия творческого труда при составлении базы данных".

Результаты исследований

Процессы автоматизации и информатизации исследований. Автоматизация эколого-биологических исследований на Каспии сейчас в целом находится в начальной стадии. Это касается как проведения полевых работ, так и лабораторной обработки проб. Автоматизированы в основном лишь процессы измерения некоторых абиотических параметров, в том числе в рамках автоматизированного мониторинга экосистем.

Необходимость в систематизации (структуризации) накапливаемых данных возникает обычно лишь в случае, когда они имеют большие объемы. Сейчас для этой цели используются преимущественно "компьютерные БД".

Применяются также информационно-справочные и информационно-аналитические системы, включающие в себя БД и ПС обеспечения интерфейса с пользователем, программы обработки данных и пр. В последнее время все более широко используются "хранилища данных" и "витрины данных" [20].

Отбор данных в хранилища производится из БД и иных источников информации. Отметим, что информация в хранилищах информации: носит слабо изменяющийся характер; поддерживается хронология (моменты получения) данных. Витрины - это предметно-ориентированные хранилища данных по определенной тематике.

Быстрый рост производительности ЭВМ и особенно емкостей носителей информации, фактически снял проблемы ограничения объемов БД. Однако остаются актуальными вопросы эффективности обеспечения селективного доступа к информации в больших БД и к плохо структурированной информации типа массивов научных публикаций в электронной форме.

Использование в БД подходов типа "индексации" единиц хранения информации позволяет обеспечить возможность задания их принадлежности сразу нескольким классификационным группам и подгруппам информации.

Для целей анализа информации и прогнозирования процессов могут применяться различные математические методы. Перечислим наиболее популярные среди них в эколого-биологических исследованиях [7]: анализ таблиц сопряженности признаков (для качественных данных); оценка достоверности различий между выборками с попарно связанными и не связанными вариантами; регрессионный и корреляционный анализ; дисперсионный анализ; методы многомерного статистического анализа (включая метод главных компонент и главных факторов); кластерный анализ; методы анализа временных рядов и пр.

Эти методы реализованы в многочисленных профессиональных пакетах статистического анализа данных (например, Statistica, Statgraphics+ и пр.). Приведенные методы достаточно широко используются при обработке исследовательских данных по Каспию, причем их применение носит не- стандартизованный характер.

В сфере информационных технологий также происходит интенсивное развитие методов анализа данных. Если ранее популярными были лишь OLAP (в рамках оперативного анализа данных) и Data Mining (в основном для выявления не очевидных зависимостей), то теперь появились и другие направления [20], прежде всего Visual Mining и Text Mining.

Как уже отмечалось, особым направлением является применение имитационного моделирования экологических процессов. Для моделей такого сложного объекта, как Каспийское море в

целом (или даже его отдельная часть) требуется достаточно подробная пространственная дискретизация.

При исследовании динамических процессов необходима также дискретизация процессов по времени, причем с относительно малым шагом. Поэтому задачи имитационного моделирования в вычислительном отношении часто оказываются чересчур трудоемкими для обычных ПЭВМ. Как альтернативы возможны: применение суперкомпьютеров (они пока все еще достаточно редки); использование вычислительных кластеров (совокупностей совместно работающих ЭВМ); динамическое управление структурой ЭВМ, построенных на программируемых логических интегральных схем (ПЛИС). По крайней мере кластерные структуры уже использовались в рамках имитационного моделирования Каспия.

Возможные подходы к планированию и комплексной оценке результатов ЭБИ, прогнозированию экологических процессов. Рассмотрим задачу распределения точек исследований между отдельными участками (в пределах изучаемой зоны) в случае, если количество таких точек является ограниченным в связи с лимитированием по доступным ресурсам (например, по длительности экспедиционных исследований, трудоемкости обработки проб и пр.). При этом мы считаем, что в пределах участка в течение года исследования могут быть выполнены в одной или большем количестве точек (или в одной и той же точке, но неоднократно).

Общее количество исследований примем равным " Ψ ". Важность информации по участкам (например, с рыбохозяйственной точки зрения) оценим вектором $\{G_k\}_{k=1...K}$, где " K " – общее количество участков. Кроме того, будем считать известными оценки "изменчивости" внутригодовой динамики некоторого интегрального показателя для участка (например, суммарного количества биотической и абиотической информации) – в виде $\{D_k\}_{k=1...K}$.

Такие оценки могут быть сделаны по результатам ранее выполненных исследований на том же или соседних участках. Тогда для " k "-ого участка количество исследований можно оценить по формуле

$$\xi_k = \Psi * (G_k^\alpha * D_k^\beta) / \sum_{f=1}^K (G_f^\alpha * D_f^\beta). \quad (1.2)$$

При этом соотношение коэффициентов α, β определяет относительные значимости "рыбохозяйственной важности" и "изменчивости". На практике применение этой формулы может вызывать технические трудности, так как количества исследований должны быть "целыми", а ξ_k вычисленные по (1.5) могут быть и "не целыми".

Возможные решения: переход от одногодичного планирования исследований к 2-3 годичному; "неполное проведение" исследований в отдельных точках (например, менее "глубокий" разбор проб зоопланктона) и пр. В общем случае планирование распределения точек исследований может быть динамическим и меняться от года к году. На практике в рамках одной организации совокупность точек исследований обычно фиксируется на ряд лет - для обеспечения сопоставимости результатов.

Оценки отдельных компонентов водных биосистем принято [9] осуществлять по следующим направлениям: характеристики органического вещества в водной среде; фитопланктон (и, прежде всего, его биомасса на единицу площади); бактериопланктон; зоопланктон; зообентос.

В качестве расчетных характеристик экосистем упомянем: оценки трофических типов водоемов (участков водоемов); первичную продукцию; оценки отношения "продукции" к "биомассе" (в том числе для бактерио- и зоопланктона); поток энергии через экосистемы (а также отношение параметров потока энергии к первичной продукции); оценки устойчивости экосистем (последний параметр можно отнести и к комплексным). Для биосистемы Каспия важной особенностью является перенос вещества и энергии между отдельными участками моря. Поэтому последние в общем случае должны рассматриваться совместно.

По методам определения (расчета) большинства этих показателей существует достаточно обширная литература – например, [9]. Отдельно остановимся на вопросах "устойчивости". В ЭБИ устойчивость чаще всего связывается с видовым разнообразием, как фактором, обеспечивающим потенциальную возможность адаптации экосистем к возможным изменениям внешних условий. При этом количественные критерии устойчивости чаще всего не применяются.

Такое понимание отличается принятого в теории управления системами, для которой характерно использование понятия "область устойчивости". Этот термин означает, обычно, ту область сочетаний параметров, для которой система, будучи выведенной из первоначального стационарного состояния возмущающим воздействием, возвращается к нему с течением времени. Подчеркнем, что термин "стационарное" не тождественен "статическому", так как стационарной может быть и система, находящаяся в состоянии периодических (установившихся) колебаний.

Дополнительно применяется и термин "запас устойчивости", относящийся к возможным разовым изменениям отдельных параметров (или их совокупностей), не приводящих к потере устойчивости системы. Могут быть использованы как минимум следующие характеристики устойчивости: запасы устойчивости по отдельным параметрам (абсолютные и относительные); средний запас устойчивости системы по возмущающим воздействиям и др.

Будем для простоты рассматривать статическое состояние системы. Для абсолютной устойчивости i -ого параметра могут быть использованы следующие формулы – для возмущений в "плюс" и "минус"

$$Z_{(i)+}^{(a)} = Z_{\max(i)} - Z_{c(i)}; \quad Z_{-(i)}^{(a)} = Z_{c(i)} - Z_{\min(i)} \quad (1.3)$$

$$Z_{(i)+}^{(r)} = (Z_{(i)\max} - Z_{(i)c}) / Z_{(i)c}; \quad Z_{(i)-}^{(r)} = (Z_{(i)c} - Z_{(i)\min}) / Z_{(i)c} \quad (1.4)$$

где: $Z_{(i)\max}; Z_{(i)\min}$ - максимально и минимально допустимые (с позиций сохранения устойчивости системы) значения для i -ого параметра; $Z_{(i)c}$ - текущее значение того же параметра; верхние индексы "(a)" и "(r)" соответствуют абсолютному и относительному критериям. Тогда минимальный запас устойчивости по абсолютному критерию

$$\min(\min_i(Z_{(i)+}^{(a)}); \min_i(Z_{(i)-}^{(a)})) \quad (1.5)$$

Соответственно "критическим" будем считать тот параметр, по которому достигается этот минимум. Средний запас устойчивости оценим как

$$Z_{(i)+}^{(sr)} = \left(\sum_{i=1}^I (Z_{(i)+}^{(a)} + Z_{(i)-}^{(a)}) \right) / (2 * I). \quad (1.6)$$

Для экосистемы Каспия "реакция" на появление в ней медузы *Mimeopsis* оказалась весьма значительной и уже привела к существенному уменьшению кормовой базы ценных видов рыб. При этом, судя по всему, процессы перехода к иному "стационарному" состоянию еще не завершились.

На практике важна реакция системы и на постоянное изменение каких-то влияющих факторов. Обычно при этом система переходит в некоторое другое стационарное состояние с иным набором параметров $\{Z'_{(i)c}\}_{i=1...I}$. В целом чувствительность системы к воздействию таких факторов в линейном приближении (что иногда может быть оправдано лишь для относительно небольших изменений значений этих факторов) можно представить матрицей чувствительности. Ее структуру покажем для случая трех влияющих факторов и четырех параметров системы (демонстрационный пример)

$$[T] = \begin{bmatrix} \partial P_1 / \partial F_1 & \partial P_1 / \partial F_2 & \partial P_1 / \partial F_3 \\ \partial P_2 / \partial F_1 & \partial P_2 / \partial F_2 & \partial P_2 / \partial F_3 \\ \partial P_3 / \partial F_1 & \partial P_3 / \partial F_2 & \partial P_3 / \partial F_3 \\ \partial P_4 / \partial F_1 & \partial P_4 / \partial F_2 & \partial P_4 / \partial F_3 \end{bmatrix}. \quad (1.7)$$

При этом величины частных производных в (1.7) могут быть в принципе оценены следующими методами: по данным полевых исследований; в результате лабораторных экспериментов; с использованием методов математического моделирования; использованием экспертных оценок. На практике подходы на основе (1.7) осложняются тем, что время реакции системы на влияющие факторы (время перехода в новое стационарное состояние) может быть достаточно значительным.

Сложность *методов комплексной оценки* экологической ситуации и ее динамики в общем случае может определяться следующими факторами: разнородностью источников информации и одновременность моментов проведения исследований; различия в используемых методиках (в том числе при проведении исследований различными организациями); неполнотой информации, используемой для оценки и пр.

Для комплексной оценки загрязнения водной среды на n -ом участке моря может быть эффективен интегральный показатель вида

$$\Omega_n = 100\% * \sum_{j=1}^J (\Phi_j / U_j), \quad (1.8)$$

где Φ_j - фактическое значение показателя загрязненности для j -ого фактора, а U_j - нормативное значение для этого фактора (или его фоновая характеристика [16]).

Сравнение различных участков исследуемой зоны по показателю Ω возможно, если: набор измеренных показателей является одинаковым, а сами измерения носили либо одномоментный характер, либо являлись результатом усреднения по времени. В рамках наглядного сопоставления таких показателей по различным участкам Каспия целесообразна цветовая кодировка в рамках контура Каспийского моря. Альтернативный по отношению к (1.8) подход

$$\Omega_n = 100\% * \sum_{j=1}^J \left\{ \frac{(F_j / U_j) - n_{пу} - F_j > U_j}{0 - n_{пу} - F_j \leq U_j} \right\}. \quad (1.9)$$

Состояние участков экосистем часто оценивается также на основании показателей биологического разнообразия. Сейчас наиболее объективным из них считается показатель "эквивитальности" (Θ) [18]

$$\Theta = H_s / \ln(s); H_s = \sum_{i=1}^I p_i \ln(p_i); p_i = K_i / \sum_{i=1}^I K_i, \quad (1.10)$$

где K_i - численность особей i -ого вида (или их суммарная биомасса). Наглядное изображение показателей биоразнообразия также возможно с помощью цветовой кодировки на карте.

Представляет интерес также "информационный" подход, концептуально обоснованный в [14]. При этом для каждого участка исследований оценивается объем "биотической" и "абиотической" информации (в [14] для этой цели предлагается использовать индекс Шеннона H_s из формулы (1.10) оценивающий показатель разнообразия). Однако для Каспия суммарное количество "информации" по участкам, оцененное таким образом, будет испытывать, как минимум, значительные внутригодовые циклические колебания. При этом с позиций распределения "усилий" по участкам исследований важен не столько внутригодовой "размах" колебаний (например, индекса разнообразия по видам или биомассы зоопланктона), сколько межгодовые различия в таких колебаниях.

Прогнозирование в ЭБИ сейчас осуществляется с использованием следующих подходов: на основе анализа временных рядов; с применением регрессионных уравнений, полученных на основании экспериментальных данных; имитационного моделирования процессов и систем. При прогнозировании обычно учитывают выделенные ранее: многолетний тренд; циклические колебания показателей (прежде всего годовые); статистические взаимосвязи отдельных показателей и пр.

Направления и технологии принятия решений. Первая группа решений связана с планированием и реализацией последующих исследований, включая: выбор номенклатуры исследований; их методик; мест, сроков, объемов исследований; методов математической обработки и пр. По крайней для лабораторных исследований целесообразно упомянуть методы "Теории планирования эксперимента" [2], которые позволяют оптимизировать расположение точек проведения исследований в факторном пространстве.

Существенно, что в силу взаимосвязей между эколого-биологическими процессами их диагностика возможна не только по прямым показателям, но и по косвенным [9], что часто позволяет сократить объемы исследований. Вторая группа включает решения, связанные с управлением: социально-экономическими системами, экологической обстановкой, природопользовательской деятельностью и пр.

При этом решения могут носить [17,19]: стратегический и оперативный характер; приниматься индивидуально или коллективно; выбора альтернатив при полной или неполной информации.

Основными ресурсными ограничениями, связанными с *принятием решений по эколого-биологическим исследованиям* можно считать следующие ограничения: финансовые, связанные с затратами на сбор (получение) информации, ее структуризацию, хранение, обеспечение доступности (в том числе при селективном выборе), анализ данных, включая выявление неявных зависимостей - Data Mining, Visual Mining и др. [20]); связанные с наличием и характеристиками исследовательского оборудования (включая его точность и возможности проведения отдельных видов исследований), экспедиционными судами и пр.; связанные с доступными ресурсами астрономического времени; определяемые доступностью мест проведения исследований; связанные с персоналом (наличие персонала, его квалификация, возможность участия в полевых исследованиях и пр.); обуславливаемые доступностью ранее уже собранной (полученной) информации.

Последний тип ограничений может носить как умышленный характер (в том числе по экономическим соображениям), так и неумышленный. Информация, находящаяся в бумажной форме, обычно является менее доступной, чем существующая в электронной форме.

Основные направления ограничений при принятии решений, связанных с природопользованием в Каспийском регионе: соблюдение экологических норм природопользования; инженерно-технические ограничения, связанные природопользованием, включая добычу и транспортировку топливно-энергетических ресурсов; финансово-экономические ограничения на уровне государств, регионов и отдельных коммерческих организаций.

Координация решений, связанных с проведением эколого-биологических исследований, в пределах одной страны может осуществляться на следующих уровнях: внутри региональном; межрегиональном; межведомственном; в рамках государственных целевых или координационных программ. Координация на межгосударственном уровне возможна в рамках международных программ и международных соглашений.

С точки зрения эффективности затрат координация эколого-биологических исследований позволяет: избежать неоправданного дублирования исследований; осуществить более полный охват территорий исследованиями; обеспечить одновременность исследований различными группами исследователей, а также временную увязку их с авиа- или космическими съемками и пр. В целом координация исследований позволяет повысить их качество и снизить расходы.

К сожалению, в настоящее время статус Каспийского моря остается не полностью определенным, что затрудняет процессы координации на межгосударственном уровне.

Экономическая эффективность ЭБИ. Для оценки рентабельности m -го варианта затрат на эколого-биологические исследования может быть использована обычная формула

$$R_m = 100\% * (E_m - Z_m) / Z_m, \quad (1.11)$$

где E_m и Z_m соответственно положительный экономический эффект (ПЭФ) и затраты. В общем случае и затраты и ПЭФ носят вероятностный характер. При использовании критерия пессимизма-оптимизма Гурвица [11] в виде $0 \leq \lambda \leq 1$, оценки для ПЭФ и затрат для конкретного (m -ого) варианта решений могут быть даны как

$$E = E_{\min} + \lambda_1 * (E_{\max} - E_{\min}) \quad (1.12)$$

$$Z = Z_{\min} + \lambda_2 * (Z_{\max} - Z_{\min}) \quad (1.13)$$

При этом для рентабельности (R) возможен диапазон ($R_{\min} \dots R_{\max}$), где

$$R_{\max} = 100\% * (E_{\max} - Z_{\min}) / Z_{\min} \quad (1.14)$$

$$R_{\min} = 100\% * (E_{\min} - Z_{\max}) / Z_{\max} \quad (1.15)$$

где E_{\min}, E_{\max} - минимальная и максимальная оценки ПЭФ, а Z_{\min}, Z_{\max} - аналогичные показатели для затрат. Подчеркнем, что вероятная оценка рентабельности может рассматриваться как дополнительная характеристика решения по отношению к (1.1).

Вывод. Из представленного материала можно сделать следующие выводы: 1) Целесообразно проведение эколого-биологических исследований Каспия по различным направлениям, причем распределение усилий (затрат) между ними нуждается в скоординированном управлении. 2) Получаемые данные ЭБИ имеют как оперативную, так и долговременную ценность.

3) Целесообразна разработка подходов к унифицированной структуризации данных ЭБИ, включая их пространственную и временную привязку.

4) Важной задачей является создание единого информационного пространства по результатам ЭБИ с применением информационно-коммуникационных технологий.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Алимов А.Ф. Разнообразие, сложность, стабильность, выносливость экологических систем // Журн. Общей биологии. – 1994. – Т. 55, № 3. – С. 285-302.
- [2] Астватурянц. Методы теории планирования эксперимента.
- [3] Близнец И.А., Леонтьев К.Б. Авторское право и смежные права. – М.: Проспект, 2009. – 416 с.
- [4] Брумштейн Ю.М. Базы данных и некоторые смежные объекты. Анализ понимания терминов в законодательстве и сфере информационных технологий. Интеллектуальная собственность. Авторское право и смежные права. – 2009. – № 1. – С. 8-18.
- [5] Грешилов В.А. Математические методы в принятии решений. – М., 2010. – С. 9-18.
- [6] Кунц Д., Одонелл С. Управление: системный и ситуационный анализ управленческих функций / Пер. с англ. – М.: Прогресс, 1981.
- [7] Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
- [8] Мусатов А.П. Пространственно-временная структура водных экосистем. – М.: Наука, 1994. – 118 с.
- [9] Мусатов А.П. Оценка параметров экосистем внутренних водоемов. – М.: Научный мир, 2001. – 192 с.
- [10] О коммерческой тайне // Федеральный закон от 29 июля 2004 г, N 98-ФЗ.
- [11] Орлов К.Е. Теория принятия решений. – М.: Экзамен, 2006. – 573 с.
- [12] Панин В.Ф., Сечин А.И., Федосова В.Д., Экология для инженера. – М.: Ноосфера, 2001. – 284 с.
- [13] Романов М.Ф., Федоров М.П., Математические модели в экологии. – СПб.: "Иван Федоров", 2003. – 240 с.
- [14] Савинов А.Б. Метод интегральной количественной оценки экосистем (информационно-энтропийный аспект) // "Современные аспекты экологии и экологического образования" Материалы Всероссийской конференции. – 19-23 сентября 2005 г. – Казань, 2005. – С. 377-378.
- [15] Системный анализ и принятие решений: Словарь справочник / Под ред. В. Н. Волковой, В. Н. Козлова. – М.: Высш. шк., 2004. – 616 с.
- [16] Усманов Б.М. Общие принципы оценки экологического состояния окружающей среды // "Современные аспекты экологии и экологического образования" Материалы Всероссийской конференции. 19-23 сентября 2005 г. – Казань, 2005. – С. 381-383.
- [17] Учитель Ю.Г., Терновой А.И., Терновой К.И. Разработка управленческих решений. – М.: ЮНИТИ: ДАНА, 2008. – 383 с.
- [18] Федоров В.Д., Гильманов Т.Г. Экология. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 464 с.
- [19] Черноруцкий И.Г. Методы принятия решений. – СПб.: БХВ, Петербург, 2005. – 416с.
- [20] Барсегян А.А., Куприянов М.С., Степаненко В.В., Холод И.И. Технологии анализа данных: Data Mining, Visual Mining, Text Mining, OLAP. – СПб.: БХВ-Петербург, 2007. – 384 с.

REFERENCES

- [1] Alimov A.F. Variety, complication, stability, endurance of the ecological systems of // Zhurn. To general biology. 1994, T.55, № 3, p. 285-302. (in Russ.).
- [2] Astvaturyanc., Methods of theory of planning of experiment. (in Russ.).
- [3] Bliznec I.A., Leont'ev K.B. copyright and contiguous rights., M.: Prospect, 2009, p.416. (in Russ.).
- [4] Brumshteyn yU.m. Databases and some contiguous objects. An analysis of understanding of terms is in a legislation and sphere of information technologies. //Intellektual'naya propert. Copyright and contiguous rights. (in Russ.).
- [5] Greshilov V.A. The Mathematical methods in making decision. it is Mcode.:2010, p. 9-18. (in Russ.).
- [6] Kunc D., Odonell P. Management: analysis of the systems and situatioonal of administrative functions of /per. with angl. of Mcode.: M.Progress, 1981.
- [7] Lakin G.F. Biometriya. it is Mcode.: higher school, 1973, p. 343. (in Russ.).
- [8] Musatov A.P. The Spatio-temporal structure of water ekosistem., M.: Nauka, 1994, p. 118. (in Russ.).
- [9] Musatov A.P. Estimation of parameters of ekosistem of internal reservoirs., M.Nauchnyy the world, 2001, p. 192. (in Russ.).
- [10] "About a commercial secret" is the Federal law from July, p. 29, 2004 grammes, N 98-FZ. (in Russ.).
- [11] Eagles. Theory of making decision . M., izd-vo "Examination", 2006, p. 573.
- [12] Panin V.F., Sechin A.I., Fedosova V.D. Ecology for an engineer., M.: publishing house "Noosfera", 2001, p. 284. (in Russ.).
- [13] Romanov M.F., Fedorov M.P. The Mathematical models in ecology, SPb.: " Ivan Fedorov ", 2003, p. 240. (in Russ.).
- [14] Savinov A.B. Method of integral quantitative estimation of ekosistem (informative-entropy aspect). /Sovremennye aspects of ecology and ecological education. Materials of the All-russian conference., on Septembers, 19-23, 2005 Kazan', 2005, p. 377-378. (in Russ.).
- [15] Analysis of the systems and making decision: A dictionary is a reference book: /Pod red. V.N. Volkovoy, V.N. Kozlova., M: higher school, 2004, p. 616.

[16] Usmanov B.M. General principles of estimation of the ecological state of environment. /Sovremennyye aspects of ecology and ecological education. Materials of the All-russian conference. on Septembers, 19-23 2005 Kazan', 2005, p. 381-383. (in Russ.).

[17] Uchitel yU.g., Ternovoy A.I., Ternovoy K.I. Development of administrative decisions, M.: UNITI DANA, 2008, p. 383. (in Russ.).

[18] Fedorov V.D., Gilmanov T.G. Ecology. Mcode.: publishing house MGU, 1980, p. 464. (in Russ.).

[19] Chernoruckiy I.G. Methods of making decision., SPb.: BKHv-Petersburg, 2005, p. 416. (in Russ.).

[20] Barsegyan A.A., Kupriyanov M.S., Stepanenko V.V., Kholod I.I. Technologies of analysis of data: Data Mining, Visual Mining, Text Mining, OLAP. – SPb., BKHv-Petersburg, 2007, p. 384. (in Russ.).

КАСПИЙ ТЕҢІЗІНІҢ ЭКОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЗЕРТТЕУЛЕРІНІҢ (ЭБЗ) ӘДІСТЕМЕЛІК МӘСЕЛЕЛЕРІ

Л. Х. Сейдалиева¹, А. Ф. Сокольский², И. В. Волкова³

¹Ш. Есенов атындағы Каспий мемлекеттік технологиялар және инжиниринг университеті, Ақтау, Қазақстан,

²Астрахань мемлекеттік архитектуралық құрылыс университеті, Ресей,

³Астрахань мемлекеттік техникалық университеті, Ресей

Түйін сөздер: экологиялық және биологиялық зерттеулер, кешенді бағалау әдісі, Каспий теңізінің экожүйесі, бактерияпланктоны, Каспий теңізінің биотасы, зообентос.

Аннотация. Мақалада авторлар жан-жақты Каспий өңіріндегі экологиялық және биологиялық зерттеулер (ЭБЗ) ұйымдастыру мәселесін шешуге тырысты. Бұл мәселенің қойылымы бірінші жағынан облыстың маңыздылығын арттырады (қоса алғанда отын-энергетикалық ресурстардың өндірісін кеңейте отырып), ал екінші жағынан ресурстарды ұтымды пайдалану қажеттілігі және аймақтағы зерттеулерді күшейту болып табылады. Бола тұра осы тәсілдің теориялық-математикалық негіздеріне және жүйелі көзқарасқасын қалыптастыруға назар аударылады.

ЭМ өнімділігінің тез өсуі, әсіресе, ақпарат тасымалдаушы контейнерлер, іс жүзінде дерекқор өлімінің шегі мәселесін алып тастады. Алайда, үлкен дерекқорларда ақпаратқа қол жеткізу селективті тиімділігі және мұндай электронды түрде ғылыми жарияланымдардың жиымдары ретінде нашар құрылымдалған ақпаратқа өзекті мәселелері қалады.

Мұндай «индекстеу» сақтау бірлік тәсілдер ретінде дерекқорларды пайдалану, бірнеше жіктеу топтарына, олардың тиесілі орнатуына және ақпарат тобына мүмкіндік береді.

Деректерді талдау және болжау процестердің мақсаты үшін, әртүрлі математикалық әдістер пайдаланылуы мүмкін.

Жоспарлаудың ықтимал тәсілдері ЭБЗ нәтижелерін жан-жақты бағалау және қоршаған ортаны қорғау процестерін болжау мүмкін. Бұл үшін шешім қабылданған: бір жылдық ғылыми-зерттеу жоспарынның 2-3 жылдығына көшу: жеке орындарда «толық өткізбеу» зерттеу (мысалы, зоопланктонның үлгілерін кем «терең» талдау). Жалпы алғанда, ғылыми-зерттеу жоспары тарату пункттерінде динамикалық болуы мүмкін және жылдан жылға өзгереді. Нәтижелерін салыстырмалылығын қамтамасыз ету үшін – тәжірибе жүзінде әдетте бірнеше жыл бойы бекітілген ұйым зерттеулерінің бір жиынтығы тұрақтыланады.

Әдістердің экологиялық жағдайды жан-жақты бағалау күрделілігін, әдетте мынадай факторлармен анықтауға болады: зерттеу, ақпарат көздерінің әртүрлілігі және зерттеу өткізудің айырмашылық кезі; (қоса алғанда әр түрлі мекемелермен зерттеу өткізу); бағалау үшін пайдаланылатын ақпараттың толық еместігі.

ЭБЗ болжау енді мынадай тәсілдерді пайдалану арқылы жүзеге асырылады: уақытша талдау негізінде; Регрессия тендеуін пайдалана отырып, эксперименттік деректер негізінде алынған; процестер мен жүйелерді модельдеу. Болжау кезінде, әдетте, бұрын бөлінген ескерді: ұзақ мерзімді тренд; циклдік ауытқулардың көрсеткіштері (әсіресе жылдық); жеке көрсеткіштердің статистикалық байланысы.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 107 – 110

**WATERBIRDS OF KARATAU REGION,
THEIR DISTRIBUTION AND DIVERSITY****E. K. Isakul, N. B. Tolbaev**

International Kazakh-Turkish University named by Kh. A. Yesevi, Turkestan, Kazakhstan.

E-mail: tonus6@mail.ru

Key words: birds, avifauna, water reservoir, migratory birds, nesting.

Abstract. Karatau ridge and its spurs - the dry, sharply continental climate region. The most important sources of fresh water in this region – small rivers and streams, most of them dry up by midsummer. During the spring floods small lakes and lagoons with a rich food source for the most of animals and particularly for the wading birds.

As an important ecosystem, artificial ponds attract not only water and wading birds are observed clusters and representatives of other environmental groups. A significant part of the avifauna of watercourses up bird in flight: it is favorable temporary shelter and parking for most of them. In addition to migrating live here and nesting and wintering birds.

The objects of our research are the three reservoirs - Koskorganskoe, Oyyk, Torlan su, and adjacent to the floodplain of the Syr Darya river is temporarily flooded areas with pronounced waterlogging.

ӘОЖ 598.243.1

**ҚАРАТАУ Өңірінің су маңы құстары,
олардың таралуы мен әралуандылығы****Е. Қ. Исақұл, Н. Б. Толбаев**

Қ. А. Ясауи атындағы Халықаралық қазақ-түрік университеті, Түркістан, Қазақстан

Түйін сөздер: құстар, орнитофауна, су қоймасы, өтпелі құстар, ұялау.

Аннотация. Қаратау таулы жотасының маңайында табиғи көлдердің болмауына байланысты мұнда жасанды су қоймалары құрылған. Ауыл шаруашылығында кеңінен қолданыста болатын бұл жасанды көлдерді көптеген құстар тіршілік ортасына айналдырған.

Аса маңызды экожүйе болғандықтан жасанды көлдер тек қана су және су маңы құстарына емес, сонымен қатар басқа да тобыр өкілдерін еліктіретіні анық. Мұнда кездесетіндерінің басым көпшілігі – өтпелі құстар: зерттелген су көздері көптеген құстар үшін тиімді қорек базасы және уақытша тұрақтары. Өтпелі құстардан басқа мұнда ұялайтын және қыстайтын өкілдері де жетерлік.

Біздің зерттеу объектілеріміз болып үш су қоймасы – Қосқорған, Ойық пен Торлан су және Сырдария өзенінің тасқын кезінде пайда болатын және айқын батпақтанып кететін уақытша көлшіктері. Аталған су көздерінің аса маңыздысы болып Қосқорған су қоймасы және Сырдария өзені табылады, себебі мұнда судың және жағалаудағы шалғындықтардың көлемі өте үлкен әрі құстардың қоректік базасы болатын ұсақ жәндіктерге бай. Сырдария өзенінің маңайында пайда болатын тұрақсыз көлшіктер құстардың тек көктемгі тұрағы бола алады. Күзде өзеннің өзінде су тартылып, деңгейінен түсіп кетеді. Су қоймаларының суы тартылса да, белгілі деңгейде тоқтайды, ондағы қорек айтарлықтай кемімейді. Су маңы құстары үшін ол өте қолайлы.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу барысында су маңы құстары мен олардың тіршіліктік ерекшеліктерін бірнеше рет бақылау, ұяларын анықтау және сараптау әдістері қолданды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

Зерттеу аймағында келесі құстардың түрлері анықталды:

Татреңтәрізділер тобыры – *Charadriiformes* Huxley, 1867

Біztұмсықтылар тұқымдасы – *Recurvirostridae*, Bonaparte, 1854

1. Ұзынсирақ балшықшы - *Himantopus himantopus*, L., 1758. Қосқорған су қоймасының жағалауында жиі кездесетін татреңтәрізді құстардың өкілі. Жиі ұялап жататыны анықталды. Ұясы шалшық, сазды жерлерде аласа ойыстың ішінде, шамамен 3–4 жұмыртқа салады. Кейбір жағдайларда екі рет балапандайды. Екі рет бақылаулар жүргізу барысында олардың ұяларының өзге жануарлармен бұзылғаны анықталды. Және бақылаудағы құстар басынан ұя салуға әрекеттенуі де байқалды.

2. Біztұмсық – *Recurvirostra avosetta*, L., 1758. Зерттеу ауданында жиі кездеспейтін, тек қана ұшып өтетін құс. Кейбір жылдары мұнда қыстауға қалады. Зерттеу барысында үнемі жалғыз, кейде 2-3 дара болып жүретіндігі бақыланды.

Тауқұдіреттер тұқымдасы – *Scolopacidae*, Vigors, 1825

1. Бөрте балшықшы – *Tringa glareola*, L., 1758. Зерттелген алқаптың маңайында сәуірден маусымға дейін кездестірілді. 2014 ж. 14 сәуірде бір дарасы, 6 мамырда бірнешесі бақыланды. Оның алдында және одан кейін бұл құс біз зерттелген аумақта байқалмады. Біз зерттеген су қоймалардың бойында ұяламайды. Нағыз балшықшы, топандарда жиі мекен ететіндігі анықталды. Қосқорған су қоймасында көктемде және күзде ұшып өтеді.

Қаратау өңірінде орналасқан Ойық, Торлан су деген басқа су қоймалардың бойынан да кездестірілді. Көбіне, шағын топтарда, кейде өзге тобыр өкілдерімен бірігіп жүретіндігі анықталды.

2. Шөпілдек – *Tringa totanus*, L., 1758. Біз зерттеген алқапта мүлдем ұяламайды, дегенімен, өте жиі кездеседі – көктемнің наурыз, сәуір айларында және жаз-күз мезгілдерінде (қазан айына дейін). Тек жағалаудан қорек іздеп, тауып жейді. Қосқорған су қоймасының акваториясына келгенде, әсіресе көктем айларында шоғырлар түзеді. Бұл құс наурыз-сәуір айларында Сырдария өзені арнасынан шығып, көптеген уақытша шалшық көлшіктер түзгенде, көптеп кездеседі. Өзге балшықшылар мен шалшықшылардың үлкен шоғырында араласып жүретіндігі байқалды.

3. Үлкен балшықшы – *Tringa nebularia*, Gyunnerus, 1767. Сырдария өзенінің тасуынан туған уақытша көлшіктерде кездесті. Негізінен, өтпелі құс. Ұялары зерттеу барысында табылмады. Уақытша кездесуі көктем және күз мезгілінде. Шағын топтар құрып жүреді, кейде 28-42 даралардан тұратын шоғырлар түзеді. Қосқорған қоймасында екі рет ғана бақыланды: 13 сәуірде, 2014 жылы – сегіз құс, 31 наурызда, 2015 жылы – төрт құс.

4. Үлкен шырғалақ – *Limosa limosa*, L., 1758. Бұл құс та Сырдария өзенінің маңайында кездестірілді. Қосқорған, Ойық су қоймаларында кездеспеді, ал Торлан суда бір рет екі дарасы байқалды.

5. Мамырқұс – *Actitis hippoleucos*, L., 1758. Ұялауы ықтимал. Зерттеу барысында барған әр учаскеде ұшып, қонып, бір жерде бірнеше уақыт отырғаны бақыланды, бірақ барып көріп ұяларын анықтауға мүмкіндік болмады. Зерттеу акваторияларында бірнеше даралары шағын топтар құрап кездесті (5-9 құстан).

6. Бұлыңғыр балшықшы – *Tringa ochropus*, L., 1758. Барлық зерттеу кезеңдерінде тек бір рет ғана кездестірілді: Сырдария өзенінің маңайында шалғындық жағалауларында бір дарасы бақыланды.

Қарақастектестер – *Glareolidae*, Brehm, 1831

1. Шабындық қарақасы – *Glareola pratincola*, L., 1766. Қыстауы және ұялауы мүмкін. Зерттеу аймағында тек 2 рет көктемде кездестірілді. Негізінен, шоғыр түзіп тіршілік етуге бейімді және өзге су маңы құстарымен бірге жүреді. Көктемдегі бақылауда 2014 жылдың 31 наурызында және 9 сәуірінде шағын топтар болып кездесті – 3–4 дарадан.

Татрендер тұқымдасы – Charadriidae, Gray, 1840

1. **Қызғыш – Vanellus vanellus, L., 1758.** Жиі кездесетін және ұялайтын құс. Көбіне жалғыз, немесе жұп болып жүреді. Жыныстық диморфизм айқын емес. Ұялары шалшық жерлерде шағын жер ойысында орналасады. Сондықтан да су деңгейі көтеріліп кетсе, ұялары мен жұмыртқалары су астында қалады. Мұндай жағдай болған жағдайда бірнеше рет ұялауы ықтимал. Жұмыртқаларын шағын тастар мен жасыл өсімдіктер арасында дер кезінде таба алу қиындықтар туғызады, себебі олар сол қоршаған ландшафтпен түстес және жақсы жасырылған. Бір табылған ұяларды қайта айналып табу қиындыққа соғады.

2. **Үлкентұмсықты шүрілдек торғай Charadrius leschenaultii, Lesson, 1826.** Үлкентұмсықты шүрілдек – зерттеу аймағында жиі кездесетін және ұялайтын құс. Денесі расында да торғайдың денесінен шамалы ғана үлкен. Шөлді-далалы жерлерде, тау баурайларының жазықтарында және сирек аласа шөптесінді өсімдіктермен көмкерілген алқаптарында мекен етеді. Біз зерттеген акваторияда аз кездесті. Көктемде наурыздың соңында-сәуірдің басында ұсақ топтар болып (3–12 құс) келеді. Күзгі ұшып кетуі жайлы ақпараттар жоқ.

Дегелектәрізділер тобыры – Ciconiiformes, Bonaparte, 1854**Құтандар тұқымдасы –Ardeidae, Leach, 1820**

1. **Үлкен аққұтан – Egretta alba, L., 1758.** Жыл көшпелі құс. Жазық суларының жағалауларын мекен етеді. Ең алғашқы кездестіру біздің алқапта наурыз айының 2014 жылдың 11 жұлдызында болды. Қысы жайлы жылдары біз зерттеген аймақта қыстауы мүмкін. Оның дәлелі ретінде Құсшы-ата өзенінің арнасында бірнеше рет жалғыз құстар кездестірілген ақпарат болады. Біз зерттеген аймақта *Egretta alba alba* (Linnaeus, 1758) түр тармағы кездеседі.

Кездескен құстардың сандық сұрыптамасы жасалынды. Ол сұрыптау нәтижесі кестеде көрсетілген.

Зерттеу аймағындағы құстардың таралуы және кездесу жиілігі (2014–2015 ж.)

| № | Су коймаларының атаулары | Қосқорған | | Ойық | | Торлан су | | Сырдария өзенінің маңайы | |
|---|--|-----------|------|------|------|-----------|------|--------------------------|------|
| | | күз | көкт | күз | көкт | күз | көкт | күз | көкт |
| Татрентәрізділер тобыры – Charadriiformes Huxley, 1867 | | | | | | | | | |
| Бізтұмсықтылар тұқымдасы – Recurvirostridae, Bonaparte, 1854 | | | | | | | | | |
| 1 | Ұзынсырақ балшықшы - Himantopus himantopus L., 1758 | 24 | 48 | 1 | 7 | 11 | 17 | 31 | 34 |
| 2 | Бізтұмсық – Recurvirostra avosetta, L., 1758 | 7 | 12 | – | – | – | 2 | 3 | 11 |
| Таукүдіреттер тұқымдасы – Scolopacidae, Vigors, 1825 | | | | | | | | | |
| 3 | Бөрте балшықшы – Tringa glareola, L., 1758 | 14 | 37 | 4 | 21 | – | 12 | 11 | 64 |
| 4 | Шөпілдек – Tringa totanus, L., 1758 | 7 | 8 | – | 3 | – | 2 | – | 4 |
| 5 | Үлкен балшықшы – Tringa nebularia, Gyunnerus, 1767 | – | 17 | – | – | 1 | 1 | 14 | 23 |
| 6 | Үлкен шырғалақ – Limosa limosa, L., 1758 | 12 | 18 | 1 | – | – | – | 19 | 43 |
| 7 | Мамырқұс – Actitis hippoleucos, L., 1758 | 4 | 14 | – | – | – | – | 16 | 28 |
| 8 | Бұлыңғыр балшықшы – Tringa ochropus, L., 1758 | 1 | 4 | – | – | – | – | 4 | 9 |
| Қаракастектестер – Glareolidae, Brehm, 1831 | | | | | | | | | |
| 9 | Шабындық қарақасы – Glareola pratincola, L., 1766 | 1 | 1 | – | – | – | 1 | 6 | 13 |
| Татрендер тұқымдасы – Charadriidae, Gray, 1840 | | | | | | | | | |
| 10 | Қызғыш – Vanellus vanellus, L., 1758 | 7 | 38 | 1 | 5 | 2 | 4 | 7 | 24 |
| 11 | Үлкентұмсықты шүрілдек торғай Charadrius leschenaultii, Lesson, 1826 | 1 | 3 | – | 1 | – | 2 | 10 | 39 |
| Дегелектәрізділер тобыры – Ciconiiformes, Bonaparte, 1854 | | | | | | | | | |
| Құтандар тұқымдасы –Ardeidae, Leach, 1820 | | | | | | | | | |
| 12 | Үлкен аққұтан – Egretta alba, L., 1758 | 3 | 7 | – | – | – | – | 4 | 7 |

Кестеде көрсетілгендей, аталған құстардың тіршіліктік бейімделуін, экологиялық ерекшеліктерін зерттеген төрт су көздерінде жасалынды. Бақылау жұмыстары бірнеше рет орындалды: күзде және көктемде. Кестеде бақылаулар кезіндегі жалпы кездестірілген құстар саны көрсетілген. Ондай жасаудың бірден бір себебі, зерттелген құстардың өтпелі, қыстаушы немесе ұялайтындығын анықтау болды. Кейбір құстар зерттеу су көздерінің біреулерінде мүлдем кездеспеді.

Зерттеу жұмысында тек бірнеше құстар ғана бақылау нысаны ретінде алынды. Толық орнитофаунаны сипаттау және систематикалық сұрыптау жүргізу болашақта жоспарланған. Мұнда берілген ақпарат тек белгілі бір бөлігін қамтыған. Бұл бағыттағы жұмыстар жалғастырылуды қажет етеді.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Березовиков Н.Н., Ерохов С.Н. Состояние орнитофауны водоёмов Кустанайской области в период усыхания озёр и засухи летом 1998 года // Рус. орнитол. журн. – 2009. – 18 (492). – С. 1050-1066.
- [2] Хроков В.В. Наблюдения за птицами в Центральном и Юго-Восточном Казахстане в мае 2010 года // Рус. орнитол. журн. – 2010. – Т. 19, Экспресс-вып. 594. – С. 1580-1583
- [3] Аветисян Р.М., Березовиков Н.Н., Рачковская Е.И., Султанова Б.М., Даныко Е.И., Алишев К.С. О необходимости придания озеру Жаланаш-коль (Алакольская система озёр, Юго-Восточный Казахстан) статуса особо охраняемой природной территории // Состояние и перспективы сети охраняемых территорий в Центральной Азии. – Ташкент, 2004. – С. 51-59.
- [4] Березовиков Н.Н., Ерохов С.Н., Белялов О.В. К орнитофауне озер Кокчетавской возвышенности (Северный Казахстан) // Материалы к распространению птиц на Урале, в Приуралье и Западной Сибири. – Екатеринбург, 2000. – С. 34-42.
- [5] Ерохов С.Н., Березовиков Н.Н. Материалы к орнитофауне озёрной степи и лесостепи Кустанайской области. Ч. 1 // Рус. орнитол. журн. – 2009. – 18 (516). – С. 1715-1742.
- [6] Ерохов С.Н., Березовиков Н.Н. Материалы к орнитофауне озёрной степи и лесостепи Кустанайской области. Ч. 2 // Рус. орнитол. журн. – 2009. – 18 (517). – С. 1751-1780.
- [7] www.birds.kz

REFERENCES

- [1] Berezovikov N.N., Erokhov S.N. Status avifauna reservoirs Kustanai region during the drying lakes and drought in summer 1998 // Rus. ornitol. Journ. 2009. 18 (492): 1050-1066.
- [2] Hrokov V.V. Bird watching in the Central and South-East Kazakhstan in May 2010 // Rus. ornitol. Journ. 2010. Vol. 19, issue Express. 594: 1580-1583
- [3] Avetisyan R.M., Berezovikov N.N., Rachkovskaya E.I., Sultanov B.M., Danko E.I., Alishev K.S. On the need to make the lake Zhalanash-kol (Alakol lake system in South-East Kazakhstan) the status of specially protected natural area // Status and prospects of the network of protected areas in Central Asia. Tashkent, 2004. P. 51-59.
- [4] Berezovikov N.N., Erokhov S.N., Belyalov O.V. To avifauna lakes Kokshetau Upland (North Kazakhstan) // Materials to the birds spread in the Urals, in the Urals and Western Siberia. Yekaterinburg, 2000. P. 34-42.
- [5] Erokhov S.N., Berezovikov N.N. Materials for avifauna lake steppe and forest steppe Kustanai region. Part 1 // Rus. ornitol. Journ. 2009. 18 (516): 1715-1742.
- [6] Erokhov S.N., Berezovikov N.N. Materials for avifauna lake steppe and forest steppe Kustanai region. Part 2 // Rus. ornitol. Journ. 2009. 18 (517): 1751-1780.
- [7] www.birds.kz

ОКОЛОВОДНЫЕ ПТИЦЫ КАРАТАУСКОГО РЕГИОНА, ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

Е. К. Исакул, Н. Б. Толбаев

Международный казахско-турецкий университет им. Х. А. Ясави, Туркестан, Казахстан

Ключевые слова: птицы, орнитофауна, водохранилища, околородные птицы, гнездование.

Аннотация. Каратауский хребет и его отроги – засушливый, резкоконтинентальным климатом регион. Наиболее важными источниками пресной воды здесь являются небольшие реки и речки, большинство из которых высыхает к середине лета. Во время весенних половодий и паводков образуются небольшие озера и лиманы с богатой кормовой базой для большинства животноных и околородных птиц в частности.

Являясь важнейшей экосистемой, искусственные водоемы привлекают не только водных и околородных птиц, здесь наблюдаются скопления и представителей других экологических групп. Значительную часть орнитофауны таких водотоков составляют птицы в пролете: это благоприятные временные прибежища и стоянки для большинства из них. Помимо пролетных, здесь обитают и гнездящиеся, и зимующие птицы.

Объектами наших исследований являются три водохранилища – Коскорганское, Ойык и Торлан су, а также прилегающие к пойме реки Сырдарья временно затопляемые районы с ярко выраженным заболочиванием. Наиболее значимой из них является Коскорганское, поскольку общий объем и площадь значительно превосходят другие. Побережье водоема богато заболоченными участками с изобилующими в них беспозвоночными – основной кормовой базой изучаемых птиц.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 111 – 118

**RESEARCH STATUS OF REPRESENTATIVES
FEATHERED AVIFAUNA TO THE MONITORING STATION
MANGYSTAU PORT AREA****L. H. Seydalieva, G. J. Kenzhetaev**

Caspian State University of Technology and Engineering named after Yesenov, Aktau, Kazakhstan.

E-mail: leilaaktau71@mail.ru

Keywords: Caspian Sea, part of the sea, the monitoring station, avifauna, wetland, marine, birds, cormorant, gull, species composition, abundance.

Abstract. The purpose of this article is to present the results of monitoring of waterbirds and seabirds, is to study the status of birds in the study area, particularly in the ports of Aktau, Kuryk, Bautino.

Much attention has been given to the most valuable in ecological terms, coastal and shallow areas, where most of rare species and species of the order Anseriformes representing the economic value, as the objects of hunting. Registered during observational species of birds, housed in a systematic manner. Fixed species composition of birds, their belonging to particular orders, the number and density of individuals, the direction of their movement. Register the prevalence of birds according to the degree of species diversity, to dominate, the degree of extension. A special place in the studies was given to monitoring and recording of species belonging to a number of rare and protected species listed in the IUCN Red List and the Red Book of Kazakhstan.

УДК 662.106.33

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ПЕРНАТЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
ОРНИТОФАУНЫ НА МОНИТОРИНГОВЫХ СТАНЦИЯХ ПОРТОВ
МАНГИСТАУСКОЙ ОБЛАСТИ****Л. Х. Сейдалиева, Г. Ж. Кенжетаев**

Каспийский государственный университет технологий и инжиниринга им. Ш. Есенова, Актау, Казахстан

Ключевые слова: Каспийское море, морская часть, мониторинговые станции, орнитофауна, околоводные, морские, птицы, баклан, чайка, видовой состав, численность.

Аннотация. Целью данной статьи является представление результатов наблюдения за околоводными и морскими птицами, заключающиеся в исследовании состояния пернатых в районах исследований, в частности, в портах Актау, Курык, Баутино.

Большое внимание было уделено наиболее ценным в экологическом отношении, прибрежным и мелководным акваториям, где сосредоточено большинство редких видов и видов отряда гусеобразных (Anseriformes), представляющих хозяйственную ценность как объект охоты. Зарегистрированные в ходе наблюдений виды пернатых располагались в систематическом порядке [8, 9].

Фиксировался видовой состав птиц, принадлежность их к тем или иным отрядам, численность и плотность особей, направление их движения. Регистрировалось преобладание птиц по степени видового разнообразия, по доминированию, по степени распространения. Особое место в исследованиях уделялось наблюдению и регистрации видов принадлежащих к числу редких и особо охраняемых видов, занесенных в Красный Список МСОП и в Красную книгу Казахстана.

Введение. Каспий – самое большое на планете бессточное озеро, но за его огромные размеры, за солоноватую воду и режим, сходный с морским, называют морем. Это закрытый водоем, и вместе с этим это прекрасная биологическая зона для развития морских промысловых рыб и птиц. Многочисленными, многолетними исследованиями, географической наукой признано значение Каспийского моря для экологии и экономики не только для прибрежных государств, но и всей планеты Земля [5].

В последние пятнадцать лет на восточной шельфовой зоне Каспийского моря произошло резкое увеличение антропогенной нагрузки. На шельфе и в прибрежной зоне Каспийского моря ведутся геологоразведочные работы и добыча нефти, по акватории проходят интенсивные транспортные пути, соединяющие районы добычи с крупнейшими портами. Вместе с тем установлено, что Каспийское море характеризуется крайней экологической чувствительностью и высоким биологическим разнообразием.

Мангистауская область является одним из районов добычи углеводородного сырья, где сосредоточены крупные как морские, так и наземные нефтяные месторождения. В Мангистауской части Каспийского моря длина береговой линии составляет 1399,5 км. Орнитофауна открытых акваторий Мангистауской области представлена типичными околотовными и морскими птицами. В период сезонных миграций над акваторией проходят миграционные пути как птиц связанных с водно-болотным фаунистическим комплексом, так и типично наземных птиц. Многие участки акваторий используются мигрирующими птицами как места стоянок. Более высокое биоразнообразие птиц характерно для объектов и структур акваторий Северо-восточного Каспия [12, 13].

Мониторинговые наблюдения за биоразнообразием, в частности, исследование видов и численности и состояния орнитофауны на акваториях и портах Каспийского моря в пределах Мангистауской области необходимы, актуальны и своевременны, для возможности оперативного реагирования на возникающие изменения биоты.

Полученные в результате исследований данные могут служить основой для дальнейших исследований и контроля за окружающей средой в районах нефтяных месторождений размещенных в прибрежной зоне Каспия.

Материалы и методы исследований. Основным источником фактической информации – материалы исследований весной и осенью 2014 года, проведенных в рамках выполнения госбюджетной НИР № госрегистрации 0112РК2173, совместно с работниками Управления природных ресурсов и рационального природопользования МО [3].

Мониторинговые наблюдения проводились согласно общепринятых методик с учетом опыта проведения аналогичных работ в прибрежной зоне Каспия. Наблюдения за птицами и тюленями проводились на станциях и на переходах между станциями с помощью бинокля. Радиус обзора составлял около 500 м. Время наблюдения на станции – 60 минут. Фиксировался видовой состав птиц, численность, направление их движения.

Результаты исследований. В соответствии с Календарным планом работ, утвержденным ГУ «Комитет науки Министерства образования и науки РК», и контролирующими организациями Мангистауской области, были выполнены наблюдения за птицами на мониторинговых станциях портов Баутино, Актау и Курык. Схема расположения точек мониторинга в морской части Мангистауской области в районах портов приведена на рисунке [2, 3].

Порт Баутино. При проведении исследований на мониторинговых станциях порта Баутино весной 2014 года выявлено 6 видов птиц, принадлежащих к 4 отрядам, общей численностью 222 особи [2–4].

В видовом соотношении преобладали ржанкообразные (Charadriiformes) – 3 вида: чайка хохотунья (*Larus cachinnans*); малая (*Sterna albifrons*) и речная (*Sterna hirundo*) крачки. В отрядах голенастые (Ciconiiformes), длиннокрылые (Apodiiformes) и воробьинообразные (Passeriformes) отмечено по одному виду: серая цапля (*Ardea cinerea*), черный стриж (*Apus*) и белая трясогузка (*Motocilla alba*).

На станциях встречалось 3–5 видов птиц общей численностью от 30 до 86 особей (таблица 1). Наиболее многочисленными были: речная (*S. hirundo*) и малая (*Sterna albifrons*) крачки. Во время осенних наблюдений 2014 года на мониторинговых станциях порта Баутино отмечено 6 видов птиц, принадлежащих к 4 отрядам.



Схема расположения точек мониторинга в исследуемых портах

Таблица 1 – Видовой состав, численность, распределение птиц в зоне портов Баутино, Актау и Курыйк. Весна 2014 года

| Станции. Виды | Баутино 1 | Баутино 2 | Баутино 3 | Баутино 4 | Актау 1 | Актау 2 | Актау 3 | Актау 4 | Курыйк 1 | Курыйк 2 | Курыйк 3 | Курыйк 4 | Всего особей вида |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|-------------------|
| Большой баклан | | | | | 12 | 2 | | 7 | 4 | | 1 | 5 | 31 |
| Серая цапля | | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| Длинноносый крохаль | | | | | | | | | 4 | 2 | | 1 | 7 |
| Утиные | | | | | | | | | 14 | | | | 14 |
| Средний поморник | | | | | | | | | | 1 | | | 1 |
| Хохотунья | 2 | 1 | 4 | 1 | 6 | 4 | 1 | 1 | | 1 | 5 | 1 | 27 |
| Малая крачка | 8 | 8 | 10 | 16 | | | | | | | | | 42 |
| Речная крачка | 30 | 54 | 16 | 69 | 12 | | 9 | | 1 | 8 | 3 | | 202 |
| Чёрный стриж | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| Белая трясогузка | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| Количество птиц по станциям | 42 | 64 | 30 | 86 | 30 | 6 | 10 | 8 | 23 | 12 | 9 | 7 | 327 |
| Количество видов по станциям | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 4 | 4 | 3 | 3 | |

Всего в окрестностях мониторинговых станций зарегистрировано 53 особи птиц. Больше всего видов – 2, выявлено в отряде ржанкообразные (*Charadriiformes*) и воробьинообразные (*Passeriformes*). Среди ржанкообразных (*Charadriiformes*) ими были: хохотунья (*Larus cachinnans*) и озерная чайка (*L. ridibundus*). Воробьиные птицы (*Passeriformes*) были представлены самым крупным представителем в отряде – вороном (*Corvus corax*) и белой трясогузкой (*Motocilla alba*). Отмечены еще несколько групп мигрирующих мелких воробьиных птиц. Представитель отряда веслоногих (*Pelecaniformes*) – большой баклан (*Phalacrocorax carbo*), был вторым по численности на мониторинговых станциях акватории порта Баутино. Было отмечено 15 особей этого вида [8–10].

На расположенной дальше всех от причальных сооружений мониторинговой станции отмечена обыкновенная пустельга (*Falco tinnunculus*). На станциях встречалось 2–4 вида птиц общей численностью от 4 до 27 особей (таблица 2). Наиболее многочисленными видами были: хохотунья (*L. cachinnans*) и большой баклан (*Ph. carbo*). Плотность распространения видов на акватории представлена в таблице 3 [14, 17].

Таблица 2 – Видовой состав, численность, распределение птиц в зоне портов Баутино, Актау и Курык. Осень 2014 года

| Станции. Виды | Баутино 1 | Баутино 2 | Баутино 3 | Баутино 4 | Актау 1 | Актау 2 | Актау 3 | Актау 4 | Курык 1 | Курык 2 | Курык 3 | Курык 4 | Всего особей вида |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------------------|
| Большой баклан | 12 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | | 95 | 3 | | | 122 |
| Обыкновенная пустельга | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| Хохотунья | 7 | 7 | 3 | 5 | 3 | | | 4 | 3 | 3 | 1 | 3 | 39 |
| Морской голубок | | | | | | | | | 17 | | | | 17 |
| Озерная чайка | 6 | | | | | | | | | | | | 6 |
| Воробьиные | | 7 | | | | | | | | | | | 7 |
| Ворон | 2 | | | | | | | | | | | | 2 |
| Белая трясогузка | | | | | | | | | | | 1 | | 1 |
| Количество птиц по станциям | 27 | 15 | 4 | 7 | 5 | 3 | 4 | 4 | 116 | 6 | 1 | 3 | 195 |
| Количество видов по станциям | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 | |

Порт Актау. При проведении исследований на мониторинговых станциях порта Актау в весенний период мониторинговой съемки 2014 года выявлено 3 вида птиц, принадлежащих к 2 отрядам, общей численностью 54 особи. В видовом соотношении преобладали ржанкообразные (*Charadriiformes*) – 2 вида: хохотунья (*L. cachinnans*) и речная (*S. hirundo*) крачка. Зарегистрирован большой баклан (*Ph. carbo*), представитель отряда веслоногих (*Pelecaniformes*) [7, 11].

Наиболее многочисленными видами были: речная крачка (*S. hirundo*) и большой баклан (*Ph. carbo*). На станциях встречалось 2–3 видов птиц общей численностью от 6 до 30 особей (таблица 1). Во время проведения наблюдений осенью 2014 года на мониторинговых станциях порта Актау отмечено 2 вида птиц, принадлежащих к 2 отрядам: веслоногие (*Pelecaniformes*) и ржанкообразные (*Charadriiformes*). Общая численность зарегистрированных птиц составила 16 особей. На большинстве мониторинговых станций отмечен большой баклан (*Ph. carbo*).

Вторым видом, встреченным на станциях, была чайка-хохотунья (*L. cachinnans*). На станциях встречалось 1–2 вида птиц общей численностью от 3 до 50 особей (таблица 2). Плотность распространения видов на акватории представлена в таблице 3 [12, 13].

Порт Курык. При проведении исследований на мониторинговых станциях порта Курык в весенний период 2014 года выявлено 5 видов птиц, принадлежащих к 3 отрядам, общей численностью 51 особь. В видовом соотношении доминировали ржанкообразные (*Charadriiformes*) – 3 вида, среди них преобладали хохотунья (*L. cachinnans*) и речная (*S. hirundo*) крачка. Встречена одна особь среднего поморника (*Stercorarius pomarinus*), вида, редко встречающегося во время пролета на Каспии [12, 13].

В акватории порта отмечено несколько групп длинноносого крохалея (*Mergus serrator*), общей численностью 21 особь. Представитель отряда веслоногих (*Pelecaniformes*) – большой баклан (*Ph. carbo*), встречался на акватории порта не реже чаек и крачек. На станциях учитывали 3–4 вида птиц, численностью от 7 до 23 особей (таблица 1).

Осенью 2014 года во время мониторинговых наблюдений на станциях в акватории порта Курык отмечено 4 вида птиц. Они представляли 3 отряда этого класса животных. Общая численность зарегистрированных на станциях птиц составила 126 особей.

Наиболее многочисленным был большой баклан (*Ph. carbo*) (отряд веслоногие (*Pelecaniformes*)). Во время осенних наблюдений здесь зарегистрировано 98 особей этого вида. Вторым по численности оказался морской голубок (*Larus genei*) – представитель отряда ржанкообразные (*Charadriiformes*) – 17 особей. Другой вид птиц из этого же семейства – хохотунья (*L. cachinnans*) – наблюдалась в количестве 10 особей.

Отмечен один вид из отряда воробьинообразных (*Passeriformes*) – белая трясогузка (*M. alba*). Всего на мониторинговых станциях порта Курык во время наблюдений осенью 2014 года учитывали от 1–4 вида птиц численностью от 1 до 116 особей (таблица 2). Плотность распространения видов на акватории представлена в таблице 3 [1–3].

Таблица 3 – Видовой состав, численность, распределение птиц в зоне портов Баутино, Актау и Курык. Осень 2014 года

| Станции. Виды | Баутино | | Актау | | Курык | | Всего особей вида |
|---------------------------------|------------------------|--------------------------------------|------------------------|--------------------------------------|------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | Численность, особей | Плотность, особей/км ² | Численность, особей | Плотность, особей/км ² | Численность, особей | Плотность, особей/км ² | |
| Большой баклан | 99 | 3,3832 | 22 | 1,9452 | 110 | 5,1513 | 231 |
| Большая поганка | 9 | 0,3076 | 1 | 0,0884 | | | 10 |
| Серощекая поганка | | | | | 5 | 0,2341 | 5 |
| Утиные | | | | | 2 | 0,0937 | 2 |
| Большой крохаль | | | | | 3 | 0,1405 | 3 |
| Черный коршун | 2 | 0,0683 | | | | | 2 |
| Перепелятник | 1 | 0,0342 | | | | | 1 |
| Обыкновенная пустельга | 1 | 0,0342 | | | | | 1 |
| Хохотунья | 86 | 2,9390 | 11 | 0,9726 | 18 | 0,8429 | 115 |
| Морской голубок | | | | | 17 | 0,7961 | 17 |
| Черноголовый хохотун | 1 | 0,0342 | | | | | |
| Озерная чайка | 6 | 0,2050 | | | | | 6 |
| Воробьиные | 23 | 0,7860 | | | | | 23 |
| Ворон | 2 | 0,0683 | | | | | 2 |
| Белая трясогузка | | | | | 2 | 0,0937 | 2 |
| Количество птиц по структуре | 230 | | 34 | | 157 | | 421 |
| Количество видов | 10 | | 3 | | 6 | | 14 |

Обсуждение. За период наблюдений весной 2014 г. в портах и прилегающей к ним акватории Каспийского моря в пределах Мангистауской области выделяются 4 фоновых вида птиц. Это типичные представители водно-болотного комплекса большой баклан (*Ph. carbo*), хохотунья (*L. cachinnans*), малая (*S. albifrons*) и речная крачка (*S. hirundo*).

Доминирующим и повсеместно распространённым видом на мониторинговых станциях была речная крачка (*S. hirundo*), встречаемость ее по станциям составила 75% и численность 202 особи (61,8% от всех учтенных птиц).

Второй по численности и четвертой по встречаемости (42 особи и 33,3% соответственно) на акватории портов была малая крачка (*S. albifrons*). Она массово на всех станциях встречалась в порту Баутино и не отмечена в других портах.

Третье место по численности (31 учетная особь и 50,0% встречаемости, что является третьим результатом) занимает большой баклан (*Ph. carbo*). Этот вид не отмечен на мониторинговых станциях порта Баутино, в то время как в портах Актау и Курык, он отмечался на трех из четырех станциях порта. [9,10]

На четвертой позиции по численности располагается хохотунья (*L. cachinnans*). При встречаемости в целом для всех акваторий портов 91,7%, ее численность на станциях составила 27 особей. При этом эта чайка составляла 3,6% всех встреченных птиц в порту Баутино, 22,2% в порту Актау и 13,7% в акватории порта Курык.

В акватории порта Курык зарегистрированы пролетные особи длинноносого крохалея (*M. serrator*). Их численность составила 7 особей, что составляет 2,1% от всех птиц, отмеченных в акватории портов. Всего за весенний период наблюдений в портах и прилегающей к ним акватории учтено 10 видов птиц, относящихся к 6 отрядам.

Относительная встречаемость птиц на станциях (количество птиц отмеченных в учетной полосе равной 1 км в течение часа) составила для порта Баутино 72,5 птиц; для порта Актау – 16,1 и для порта Курык 16,5 птиц. В среднем этот показатель для акваторий всех портов составил 35,3 птицы. За период осенних наблюдений 2014 года в портах и на акватории к ним прилегающей можно выделить два фоновых вида: большого баклана (*Ph. carbo*) и чайку-хохотунью (*L. Cachinnans*). Эти виды встречались на акватории всех портов [5, 13].

Доминирующим и повсеместно распространенным видом был большой баклан. Встречаемость этого вида по станциям составила 75,0% при общей численности 122 учетные на станциях особи. Достаточно высока была плотность распространения этого вида в акватории порта Курык и порта Баутино. Всего на акватории портов учтен 231 большой баклан.

Вторым по численности видом, встречающимся в осенний период на акватории портов, была хохотунья. Всего учтено 115 птиц этого вида. Встречаемость по станциям составила 83,0%. Наиболее многочисленна эта птица была в акватории порта Курык и порта Баутино.

Плотности распространения других видов относительно невелики. Размещения их на акватории связаны с той или иной стадией пролета на дату обследования конкретной акватории. Были зарегистрированы птицы, появившиеся уже на зимовку (большая поганка (*Podiceps cristatus*), серошекая поганка (*P. grisegena*), вороны (*Corvus corax*)) или мигрирующие через акваторию портов и окружающее пространство воробьиные (*Passerinae*), обыкновенная пустельга (*Falco tinnunculus*), перепелятник (*Accipiter nisus*)) [12, 13].

Вместе с этим на акватории порта Баутино отмечен черноголовый хохотун (*L. ichthyaetus*), вид, занесенный в Красную книгу РК (1996).

В наблюдениях 2014 года было выявлено, что основной миграционный поток большинства видов птиц уже иссяк.

Выводы. Орнитофауна открытых акваторий Мангистауской области представлена типичными околоводными и морскими птицами. Наиболее массовыми птицами являются большой баклан (*Ph. carbo*), поганки (чомга (*P. cristatus*), серошекая (*P. grisegena*)) чайки (хохотунья (*L. Cachinnans*), малая чайка (*L. minutus*)), крачки (речная (*S. hirundo*), пестроносая (*S. sandivicensis*), малая (*S. albifrons*)).

В период сезонных миграций над акваторией проходят миграционные пути как птиц, связанных с водно-болотным фаунистическим комплексом, так и типично наземных птиц. Массовыми видами в период сезонных миграций становятся стрижи, многие виды мелких воробьиных птиц, кулики, представители пластинчатоклювых птиц, лысухи.

Многие участки акваторий используются мигрирующими птицами как места стоянок. На обследованных весной 2014 года акваториях портов расположены миграционные пути короткохвостого поморника [4, 10].

Для конкретизации этих участков необходимы долгосрочные наблюдения. Встречаемость на акватории Мангистауской области черноголового хохотуна (*L. ichthyaetus*), вида, внесенного в Красную книгу Республики Казахстан (категория 2), определяется расстоянием гнездовых колоний вида от тех или иных участков акваторий структур. Установлено, что более высокое биоразнообразие птиц характерно для объектов и структур акваторий северо-восточного Каспия.

В период наблюдений гибели птиц из-за и отрицательного воздействия антропогенного и техногенного факторов на орнитофауну не наблюдалось. Мониторинговые наблюдения за орнитофауной, в частности, за птицами в портах и акваториях структур Каспия необходимо продолжить для возможности оперативно реагировать на возникающие изменения биоты.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Закон Республики Казахстан от 15 июля 1997 года № 160-І «Об охране окружающей среды».
- [2] О состоянии экологической обстановки Мангистауской области и источниках его загрязнения. Управление природных ресурсов и регулирования природопользования Мангистауской области (УПРиП). – Актау, 2011. – 62 с.
- [3] Отчет о научно-исследовательской работе. № госрегистрации 0112РК2173. Научное обоснование комплексного исследования компонентов окружающей среды прибрежной зоны Каспия и техногенных объектов. – Актау, 2014. – 95 с.
- [4] Комплексное изучение современного состояния и пространственно-временных изменений гидрологического, гидрохимического и биологического режимов Черного, Азовского и Каспийского морей, включая прибрежную и шельфовую зону. – Отчет о НИР., ГОИН. – М., 2002.
- [5] Косарев А.Н., Яблонская К.Н. Каспийское море. – 1994. – 259 с.
- [6] Яблонская Е.А. Биология Каспийского моря. – М.: Изд-во ВНИРО, 2007. – 129 с.
- [7] Ковшарь А.Ф. Красная Книга Казахстана. – Алматы: Конжик, 1996.
- [8] Красная книга Казахской ССР. – Изд. 2-е. – Т. 1. Животные. – Алма-Ата: Гылым, 1991. – С. 339-538.
- [9] Красная книга Казахской ССР. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. – Ч. 2. Растения. – Алма-Ата, 1981. – 268 с.
- [10] Красная Книга Казахстана. – Т.1. Позвоночные. – 1996. – 325 с.
- [11] Касымов А.Г. Каспийское море. – Л.: Гидрометеиздат, 1987. – 152 с.
- [12] Птицы Казахстана в 5-ти томах. – Алма-Ата, 1960-1974. – С. 97-105.
- [13] Птушенко Е.С. Подсемейство гусиных Anserinae. – Птицы. – Т. 4. – С. 246-344 с.
- [14] Гисцов А.П. Мониторинг состояния водоплавающих и околоводных птиц Северного Каспия на рубеже столетий // Тр. Института зоологии. – Т. 48. Орнитология. – Алматы, 2004. – С. 260-278.
- [15] Кишинский А.А. Миграции лебедя-шипуна. Миграции лебедя-кликуна. Миграции белолобого гуся., Миграции птиц Восточной Европы и Северной Азии. – М., 1979. С. 37-70, 70-75, 142-144.
- [16] Климов А.С. Белохвостая пигалица в Северо-Восточном Прикаспии., Редкие птицы и звери Казахстан. – Алма-Ата, 1991. – С. 172-174.
- [17] Книга генетического фонда фауны Казахской ССР. – Алма-Ата, 1989. – С. 1-215.

REFERENCES

- [1] Law of the Republic of Kazakhstan of July 15, 1997, № 160-I «On Environmental Protection».
- [2] On the state of the environmental situation of Mangistau region and sources of contamination. Mangistau region (UPR and RP) natural resource management and environmental management. Aktau, 2011. 62 p.
- [3] On the scientific research report., number state registration 0112RK2173. Scientific substantiation of a comprehensive study of the environmental components of the coastal zone of the Caspian Sea and industrial facilities. Aktau, 2014. 95 p.
- [4] A comprehensive study of the current state and the spatial and temporal changes in the hydrological, hydro-chemical and biological conditions of the Black, Azov and Caspian seas, including coastal and shelf zone. Research report, SOI. Moscow, 2002.
- [5] Kosarev A.N., Yablonsky K.N. Caspian Sea, 1994. 259 p.
- [6] Yablonsky E.A. Caspian Sea Biology. Moscow: Publishing VNIRO, 2007. 129 p.
- [7] Kovshar A.F. The Red Book of Kazakhstan. Almaty: Konzhik, 1996.
- [8] The Red Book of Kazakhstan. Ed. 2nd. T. 1. Animals. Alma-Ata: Gylym, 1991. P. 339-538.
- [9] The Red Book of Kazakhstan. Rare and endangered species of animals and plants. Part 2. Plants. Almaty, 1981. 268 p.
- [10] The Red Book of Kazakhstan. Vol. 1. Vertebrates, 1996. 325 p.
- [11] Kasymov A.G. Caspian Sea. Hidrometeoizdat, 1987. 152 p.
- [12] Birds of Kazakhstan in 5 volumes. Alma-Ata, 1960-1974. P, 97-105.
- [13] ES Ptushenko Subfamily goose Anserinae. Birds. T. 4. P. 246-344.
- [14] GISCAP Monitoring the status of waterbirds in the Northern Caspian turn of the century. Proc. Institute of Zoology. Vol. 48. Ornithology. Almaty, 2004. P. 260-278.
- [15] Kischinsky A.A. Migration mute swan. Migration whooper swan. Migration white-fronted goose., Migration of birds of Eastern Europe and Northern Asia. M., 1979. P. 37-70, 70-75 p, 142-144.
- [16] Klimov A. The white-tailed lapwing in the North- East Caspian. Rare birds and beasts Kazakhstan. Alma-Ata, 1991. P. 172-174.
- [17] The Book of the genetic fund of fauna of the Kazakh SSR. Almaty, 1989. P. 1-215.

**МАНҒЫСТАУ ОБЛЫСЫНЫҢ БАҚЫЛАУ ПОРТТАРЫНДА ОРНИТОФАУНА ӨКІЛІ
ҚАНАТТЫЛАРДЫҢ ЗЕРТТЕУ ЖАҒДАЙЫ**

Л. Х. Сейдалиева, Г. Ж. Кенжетаев

Ш. Есенов атындағы Каспий мемлекеттік технологиялар және инжиниринг университеті, Ақтау, Қазақстан

Түйін сөздер: Каспий теңізі, Каспий теңізінің бөлігі, мониторинг станциясы, орнитофауна, сулы-батпақты, теңізді, құстар, сукүзғын, шағала, түрлік құрамы, саны.

Аннотация. Мақаланың мақсаты зерттеу аудандарында, мәселен атап айтқанда, Ақтау порты, Құрық, Баутино жерлерінде қанаттылардың жағдайын зерттеу, сулы батпақты және теңіз құстарына бақылау нәтижелерін ұсыну болып табылады.

Аңшылық объектілері болып табылатын, үй шаруашылығының құнын көрсететін, қазтектердің аса сирек түрлері (*Anseriformes*) мекендейтін, экологиялық қатынасы құнды болып табылатын жағалау және таяз су аудандарына көп көңіл аударылған.

Бақылау кезінде тіркелген қанаттылардың түрлері жүйелі тәртіпте шоғырланған. Құстардың ерекше құрылымы, өзге топтарға деген керек жарақтары, тұлғалардың көлемі мен тығыздығы, олардың қозғалысының бағыттары бекітілді.

Құстар түрлерінің ерекшелігінің дәрежесіне, басымдылығына, ұлғаю деңгейіне қарай бекітілді. Зерттеулерде МСОП қызыл тізіміне және Қазақстанның қызыл кітабына еңгізілген, қорғауға алынған, сирек түрлерді бақылау және бекітуге көп көңіл аударылған.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 118 – 126

**THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC ACTIVITIES
OF THE NEW ANTIVIRAL PLANT ORIGIN PREPARATION
“FLAVOVIR” IN VITRO AND IN VIVO**

A. S. Turmagambetova, E. S. Omirtaeva, M. S. Alexyuk, A. P. Bogoyavlenskiy, V. E. Berezin

Institute of microbiology and virology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: aichyck@mail.ru

Key words: flavonoids, influenza virus, antiviral preparations, suppression of infectivity.

Abstract. Viruses are pathogens of more than 60% of infectious diseases of humans, animals and plants. In current migratory mobility of the population outbreak in one part of the world could be seen as a threat to any other region. One of the most actual problems of modern virology is the creation of new antiviral therapeutic and prophylactic preparations. It is believed that the plant preparations possess a wide spectrum of biological activity and are able to affect to different stages of virus-cell interaction. High anti-viral activity in a number of compounds of terpenoid and flavonoid nature, isolated from the plants of the flora of Kazakhstan was established. Prophylactic and therapeutic efficacies of antiviral plant origin preparation “Flavovir” were studied. High therapeutic activity of this preparation is shown in model experiments in vitro and in vivo. It is shown that the therapeutic activity of “Flavovir” exceeds the therapeutic activity of commercial drugs “Relenza” and “Rimantadine”. Therapeutic activity of “Flavovir” is comparable to the activity of commercial anti-influenza drug “Tamiflu”. Moderate prophylactic activity of the “Flavovir” to influenza virus subtype H3N2 and pronounced prophylactic activity against drug-resistant influenza virus antigen subtype H5N3 showed in vitro. High prophylactic activity of “Flavovir” in relation to the epidemiologically significant strain of influenza virus (H3N2) established in experiments in vivo. The residual infectivity of influenza virus (H3N2) in the lungs of infected mice after intranasal administration of “Flavovir” at a dose of 200.0 mg/mice decreased by 0.5 lg, which was comparable to the activity of commercial preventive antiviral drugs “Relenza” and “Rimantadine”.

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ «ФЛАВОВИР» IN VITRO И IN VIVO

А. С. Турмагамбетова, Э. С. Омиртаева, М. С. Алексюк, А. П. Богоявленский, В. Э. Березин

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: флавоноиды, вирус, грипп, противовирусные, препараты, подавление инфекционности.

Аннотация. Вирусы являются возбудителями более 60% инфекционных заболеваний человека, животных и растений. При современной миграционной подвижности населения вспышка заболевания в одной части земного шара может рассматриваться как угроза для любого другого региона. Одной из наиболее актуальных проблем современной вирусологии является создание новых противовирусных лечебных и профилактических препаратов. Считается, что растительные препараты обладают широким спектром биологической активности и способны оказывать воздействие на различные этапы взаимодействия вируса с клеткой. Установлена высокая противовирусная активность у ряда соединений терпеноидной и флавоноидной природы, выделенных из растений флоры Казахстана. В работе изучалась профилактическая и терапевтическая активность противовирусного препарата растительного происхождения «Флавомир». Установлена высокая терапевтическая активность данного препарата при испытании в модельных экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Показано, что терапевтическая активность препарата «Флавомир» превосходит терапевтическую активность коммерческих препаратов «Реленза» и «Ремантадин» и сопоставима с активностью импортного коммерческого противогриппозного препарата «Тамифлю». В опытах *in vitro* показана умеренная профилактическая активность препарата «Флавомир» по отношению к вирусу гриппа подтипа H3N2 и выраженная профилактическая активность по отношению к резистентному вирусу гриппа антигенного подтипа H5N3, устойчивому к действию коммерческих противовирусных препаратов. В опытах *in vivo* установлена высокая профилактическая активность препарата «Флавомир» по отношению к эпидемически значимому штамму вируса гриппа H3N2, сравнимая с профилактической активностью коммерческих противовирусных препаратов «Реленза» и «Ремантадин».

Введение. Вирусы являются возбудителями более 60% инфекционных заболеваний человека, животных и растений. При этом доля особо опасных и наиболее массовых вирусных инфекций человека и животных составляет не менее половины от известных инфекционных заболеваний, а число вновь открываемых вирусов ежегодно увеличивается. Вирусные инфекции являются одной из основных причин смертности среди людей, как в развитых странах, так и странах со слабой экономикой. В случае развития массовых вспышек вирусных инфекций, таких как оспа, геморрагические лихорадки, бешенство, гепатит, СПИД, грипп и многих других, обществу наносится невосполнимый социальный и экономический урон [1].

При современной миграционной активности населения вспышка заболевания в одной части земного шара может рассматриваться как угроза для любого другого региона. Например, появившийся весной 2009 г. в Мексике новый мутантный штамм «свиного» гриппа H1N1 уже спустя 6 месяцев был зарегистрирован в подавляющем числе стран мира. Чрезвычайно велик и экономический ущерб от вспышек вирусных инфекций. Так, потери в сельском хозяйстве, связанные только с двумя возбудителями – вирусом гриппа птиц и вирусом болезни Ньюкасла, ежегодно оцениваются более чем 200 миллиардов долларов США. Затраты на медицинскую помощь во время крупномасштабных эпидемий гриппа, связанные с расходами на стационарное лечение, потери от временной нетрудоспособности населения, лечение постгриппозных осложнений и т.д. также исчисляются сотнями миллиардов долларов [2-4].

Борьба с вирусными инфекциями осуществляется по двум направлениям: 1 – диагностика, мониторинг и контроль; 2 – профилактика и лечение. Своевременное выявление новых очагов вирусных инфекций и мониторинг существующих, эффективная диагностика и обнаружение вирусов на ранних стадиях распространения позволяют предупредить или значительно сократить ущерб от

вспышек вирусных инфекций. Если все же началось развитие эпидемического процесса на первое место, помимо карантинных мероприятий, выходит противовирусная терапия, позволяющая ускорить процесс выздоровления и облегчить течение вирусного заболевания [5].

Отрасль биоиндустрии, связанная с разработкой и производством медицинских и ветеринарных противовирусных препаратов, относится к числу наиболее быстро растущих и прибыльных в мире. Общий объем биотехнологической продукции, имеющий отношение к противовирусным препаратам, оценивается более чем в триллион долларов в год. Для Казахстана интенсивное развитие собственной фармацевтической промышленности и рынка биопрепаратов на сегодняшний день является стратегической задачей, позволяющей решить многие проблемы, включая улучшение здоровья населения, рост экономического благополучия государства и обеспечение биологической безопасности страны.

Одной из наиболее актуальных проблем современной вирусологии является создание новых противовирусных лечебных и профилактических препаратов. Расширение знаний о биохимическом строении, свойствах вирусов, а также механизмах их взаимодействия с клетками, позволило определить основные направления поиска противовирусных химиотерапевтических средств. Вместе с тем, создание антивирусных препаратов, специфически блокирующих вирусную инфекцию, но не повреждающих клетки организма, является весьма сложной задачей, поэтому результаты многолетних поисков антивирусных веществ оказались весьма скромными и увенчались открытием лишь единичных химиопрепаратов. Большое значение также придается разработке таких препаратов, которые были бы способны не только блокировать процесс репродукции вируса, но и стимулировать природную иммунную защиту организма от вирусных инфекций [5].

Растительные препараты обладают широким спектром биологической активности и могут воздействовать на различные пути взаимодействия вируса с клеткой. Установлена высокая антивирусная активность у ряда соединений терпеноидной и флавоноидной природы, выделенных из растений флоры Казахстана [6-9]. Ранее нами был получен новый противовирусный препарат «Флавомир» на основе флавоноидов растительного происхождения [10]. Лабораторные испытания этого препарата продемонстрировали его высокую активность в отношении широкого спектра вирусов, в том числе высокопатогенных штаммов вируса гриппа человека, животных и птиц. Показано отсутствие токсических свойств у данного препарата в терапевтических концентрациях. Препарат «Флавомир» является весьма перспективным в качестве лечебного противовирусного средства и его производство может быть организовано в Казахстане из доступного растительного сырья.

Целью данной работы являлось изучение терапевтической и профилактической активности противовирусного препарата «Флавомир» в опытах *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

Препарат «Флавомир» получали путём водно-спиртовой экстракции растительного сырья. Ткани растений измельчали до размера частиц 2-3 мм. Для удаления липидов измельчённое сырьё двукратно, в течение четырёх часов обрабатывали 5-кратным объёмом этилового эфира уксусной кислоты. Экстракцию осуществляли 5-кратным объёмом 80% этилового спирта в течение четырёх часов. Полученный экстракт отфильтровывали и высушивали при температуре не выше 56°C. Суспензию и растворы препарата «Флавомир» готовили на фосфатно-солевом буфере, pH 7,2.

В качестве объектов исследования использовали вирусы гриппа с различной антигенной формулой, штаммы: А/Алматы/8/98 (H3N2), А/Aichi/2/68 (H3N2) и А/крачка/Южная Африка/1/61 (H5N3).

Вирусы выращивали в аллантоисной полости 10-11-дневных куриных эмбрионов (КЭ) в течение 36-48 ч. при 37°C. Инфекционный титр определяли на куриных эмбрионах методом предельных разведений. О наличии вируса судили по реакции гемагглютинирующей активности. Титр инфекционности вирусов высчитывали по методу Рида и Менча [11] и выражали в lg ЭИД₅₀/мл. Титр вируса в аллантоисной жидкости составлял 10⁷-10⁹ ЭИД₅₀/мл.

Гемагглютинирующую активность вирусов определяли по стандартной методике с использованием 0,75% взвеси куриных эритроцитов [12].

Терапевтическую и профилактическую активность *in vivo* препарата «Флавомир» изучали на белых беспородных мышах обоего пола массой 19-21 грамм. В экспериментах использовали животных, на которых ранее не проводили никаких испытаний. За 2 часа до проведения исследований исключали возможность потребления животными корма и воды. Каждая экспериментальная группа содержала по 7 животных.

При изучении терапевтической активности препарата «Флавомир» животных заражали вирусом гриппа, штамм, A/Aichi/2/68, адаптированным к мышам. Предварительно вирус выращивали в аллантоисной полости 10-11 дневных куриных эмбрионов и затем пассировали на мышах. Мышей инфицировали интраназально вирусом в дозе 100 ЭИД₅₀. После инфицирования животным также интраназально вводили препарат «Флавомир» в дозе 10,0 мг/кг (200 мкг/мышь). Препарат применяли через 24, 48, 72 и 96 часов после заражения.

При изучении профилактической активности мышам на протяжении 4 дней интраназально вводили препарат «Флавомир» в дозе 10,0 мг/кг. Контрольные группы мышей получали коммерческие противовирусные препараты в профилактических дозах: «Ремантадин» (5,0 мг/кг), «Реленза» (10 мг/кг) и «Тамифлю» (10 мг/кг), а также изотонический раствор хлорида натрия (плацебо). На 5 сутки животных заражали интраназально вирусом гриппа, A/Aichi/2/68 (H3N2) в дозе 100 ЭИД₅₀, как описано выше. Наличие профилактической активности у исследуемого препарата оценивали по остаточной инфекционной активности вируса в легких мышей через 7 дней после заражения.

Терапевтическое действие препарата «Флавомир» *in vitro* изучали на модели 10-11 дневных куриных эмбрионов. КЭ заражали вирусом гриппа, штаммы A/крачка/Южная Африка/1/61 (H5N3) и A/Алматы/8/98 (H3N2), в дозе 10 ЭИД₅₀. Через 3 часа после заражения в хорион-аллантоисную полость КЭ однократно вводили исследуемый препарат в дозе 0,2 мг и 1,0 мг на КЭ. Контрольной группе в хорион-аллантоисную полость однократно вводили изотонический раствор хлорида натрия (плацебо). Активность размножения вируса гриппа в КЭ оценивали путем измерения количества ампликонов матричного гена методом ПЦР в реальном времени. При этом сравнивали способность подавлять репродукцию вируса гриппа у экспериментального и коммерческих противовирусных препаратов.

Аналогичным образом *in vitro* изучали профилактическое действие препарата «Флавомир». В хорион-аллантоисную полость КЭ однократно вводили «Флавомир» в дозе 0,2 мг и 1,0 мг на куриный эмбрион. Контрольной группе в хорион-аллантоисную полость однократно вводили изотонический раствор хлорида натрия. Через 8 часов после введения препарата КЭ заражали вирусом гриппа в дозе 10 ЭИД₅₀. Профилактическую активность изучаемого препарата оценивали по его способности подавлять репродукцию вируса гриппа при предварительном применении.

Суммарную РНК выделяли из 200 мкл вирусосодержащей аллантоисной жидкости с помощью набора для экстракции РНК Rneasy Mini Kit («QIAGEN, GmbH», Германия) согласно методическому руководству с небольшими модификациями.

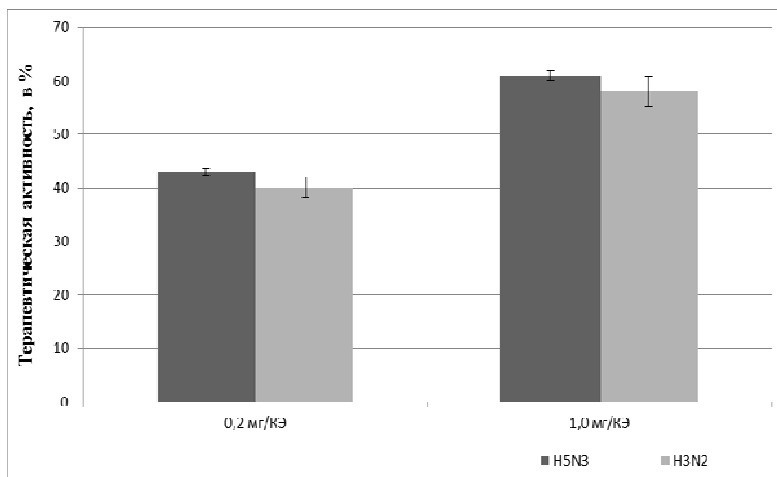
Обратную транскрипцию осуществляли с помощью M-MLV («Promega», США) в 5 мкл реакционной смеси (2,7 мкл РНК (50 нг), 0,84 мкл воды, 1 мкл 5x буфера для обратной транскриптазы («Promega», США), 0,19 мкл 2 мМ смеси dNTPs, 0,25 мкл 20 pmol праймера Uni-12 5'-gca aaa gca gg-3' и 0,125 мкл M-MLV (1U/мкл). Реакцию проводили при 37⁰С в течение 60 мин.

ПЦР 45 циклов проводили в 20 мкл реакционной смеси (4 мкл ДНК матрицы, 8 мкл SybrGreen, по 1 мкл 20 pmol прямого и обратного праймеров, вода) на термоциклере «PicoReal» (Финляндия) при следующих режимах: 94⁰С – 1 мин, 48⁰С – 1 мин, 72⁰С – 3 мин. Динамику накопления ампликонов изучали с использованием фрагмента гена матричного белка (праймеры M+5 5'-aag cag gta gat att gaa ag-3' и M-1027 5'-agt aga aac aag gta gt-3').

Обработку данных производили в программе Microsoft Office Excel 2003. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [13].

Результаты исследования

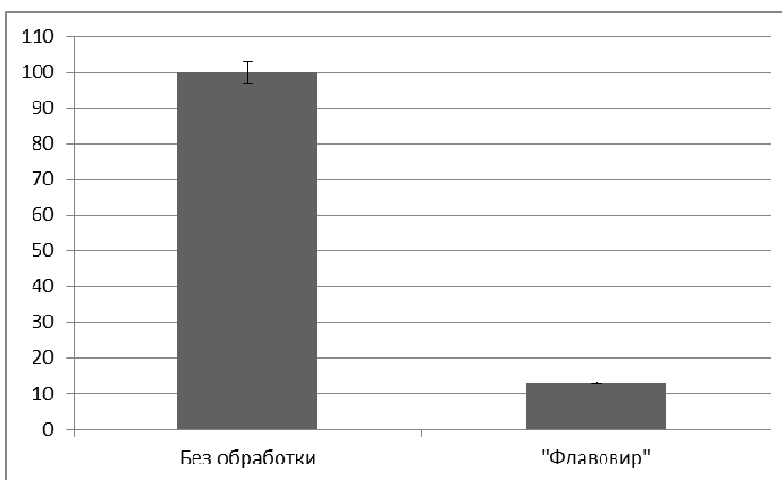
Терапевтическую активность препарата «Флавовир» исследовали в опытах *in vitro* на модели куриных эмбрионов с использованием вирусов гриппа птиц и человека: А/краска/Южная Африка/1/61 (H5N3) и А/Алматы/8/98 (H3N2). Установлено, что при терапевтическом применении препарата «Флавовир» в дозе 0,2 мг/КЭ активность размножения вируса гриппа снижалась на 40%, а при увеличении дозы до 1,0 мг/КЭ подавление размножения вируса достигало 60% (рисунок 1).



Примечание. По оси ординат % ампликонов гена М белка вируса гриппа.

Рисунок 1 – Изучение терапевтического действия препарата «Флавовир» *in vitro* на модели вируса гриппа

Определение терапевтических свойств препарата «Флавовир» *in vitro* методом ПЦР в режиме реального времени также выявило существенное подавление репликативной активности вируса гриппа после обработки данным препаратом. Показано, что внесение препарата «Флавовир» снижало интенсивность репродукции вируса гриппа не менее чем в 8 раз (рисунок 2).



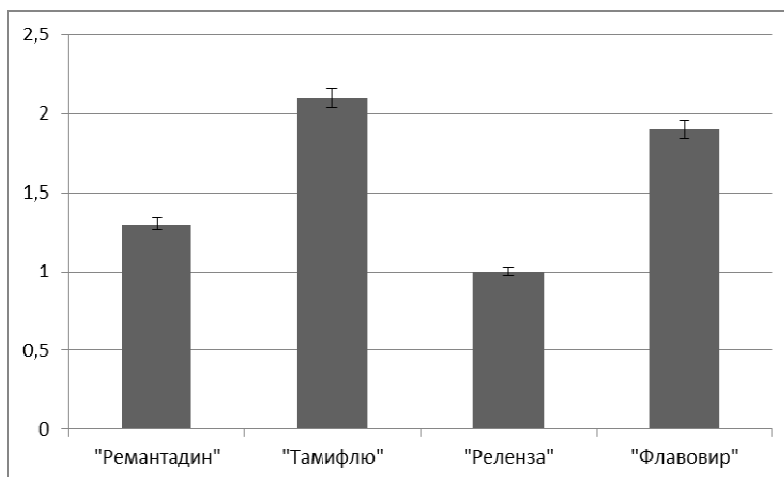
Примечание. По оси ординат % ампликонов гена М белка вируса гриппа.

Рисунок 2 – Количество ампликонов гена М белка вируса гриппа до и после обработки куриных эмбрионов препаратом «Флавовир» в дозе 1,0 мг/КЭ

Таким образом, установлено, что терапевтическая активность препарата «Флавовир» в дозе 1,0 мг/КЭ составляла не менее 60% для обоих изученных вирусов гриппа. Следует отметить, что для анализа были выбраны вирусы гриппа двух различных антигенных подтипов: H5N3 и H3N2, а также относящиеся к вирусам гриппа птиц (штамм А/краска/Южная Африка/1/61) и гриппа человека (штамм А/Алматы/8/98).

Также было проведено изучение терапевтической активности препарата «Флавомир» в опытах *in vivo*. Для этих экспериментов был использован вирус гриппа, штамм A/Aichi/2/68 (H3N2), вызывающий смертельную пневмонию у мышей. Терапевтическую активность препарата «Флавомир» определяли путем измерения остаточной инфекционности вируса в легких зараженных мышей и анализа динамики изменения массы тела мышей после заражения вирусом и терапевтического приема препарата. Группы мышей по 7 особей заражали вирусом гриппа, штамм A/Aichi/2/68 (H3N2) в дозе 100 ЭИД₅₀ (50 мкл/мышь). Через 24, 48, 72 и 96 часов после заражения мышам интраназально вводили препарат «Флавомир» в дозе 200 мкг/мышь. Контрольные группы мышей через аналогичные интервалы времени получали коммерческие противовирусные препараты в терапевтических дозах: «Ремантадин» 100,0 мкг/мышь, «Реленза» 200 мкг/мышь и «Тамифлю» 200 мкг/мышь, а также изотонический раствор хлорида натрия (плацебо) перорально в объеме 100 мкл/мышь.

Как показали результаты проведенных экспериментов, применение разработанного противовирусного препарата «Флавомир» приводило к заметному снижению активности инфекционного процесса в легких мышей (рисунок 3). Так, остаточная инфекционность вируса гриппа в легких зараженных мышей после применения препарата «Флавомир» сокращалась на 1,9 lg. Это было сопоставимо с подавлением инфекционности вируса в легких мышей после применения наиболее сильного из известных коммерческих антигриппозных препаратов «Тамифлю» (2,1 lg) и заметно превосходило активность других коммерческих противогриппозных препаратов «Ремантадин» (1,3 lg) и «Реленза» (1,0 lg).



Примечание. По оси ординат разница титра инфекционности (lg) в легких мышей между группами мышей, получавшими препарат и не получавшими препарат.

Рисунок 3 – Изучение терапевтического действия препарата «Флавомир» в опытах *in vivo* при заражении мышей вирусом гриппа, штамм A/Aichi/2/68 (H3N2)

Полученные результаты свидетельствуют о высокой терапевтической активности разработанного противовирусного препарата растительного происхождения «Флавомир» при испытании *in vivo* в модельных экспериментах на животных.

В другой серии экспериментов *in vitro* и *in vivo* было проведено изучение профилактической активности препарата «Флавомир».

Профилактическое действие препарата «Флавомир» в отношении вируса гриппа птиц A/краска/Южная Африка/1/61 (H5N3) и вируса гриппа человека A/Алматы/8/98 (H3N2) в опытах *in vitro* изучали на модели 10-11 дневных куриных эмбрионов. Профилактическую активность препарата оценивали по его способности подавлять репродукцию вируса гриппа. Как показали результаты опытов, профилактическое действие препарата «Флавомир» имело дозо-зависимый характер. При введении препарата «Флавомир» в дозе 0,2 мг/КЭ уровень защиты от заражения составлял 20% для вируса гриппа H5N3 и 11% для вируса гриппа H3N2. При введении препарата в дозе 1,0 мг/КЭ уровень защиты от заражения возрастал до 40% для вируса гриппа H5N3 и до 20% для вируса гриппа H3N2 (рисунок 4).

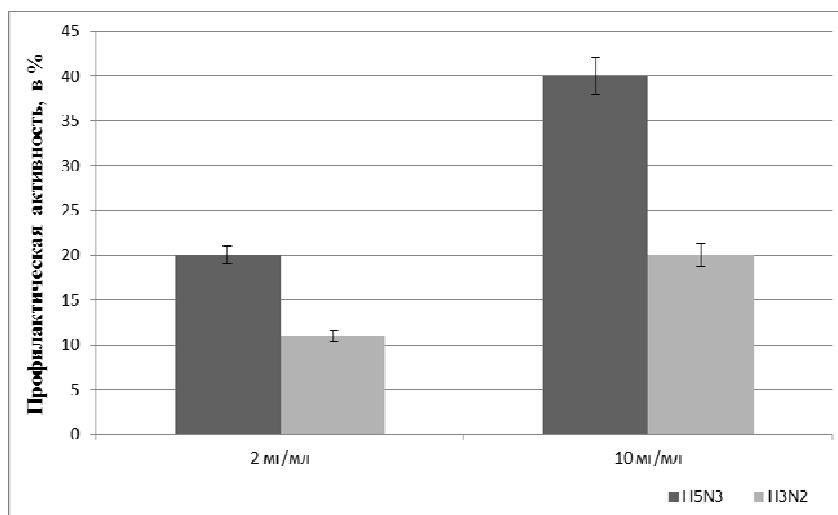
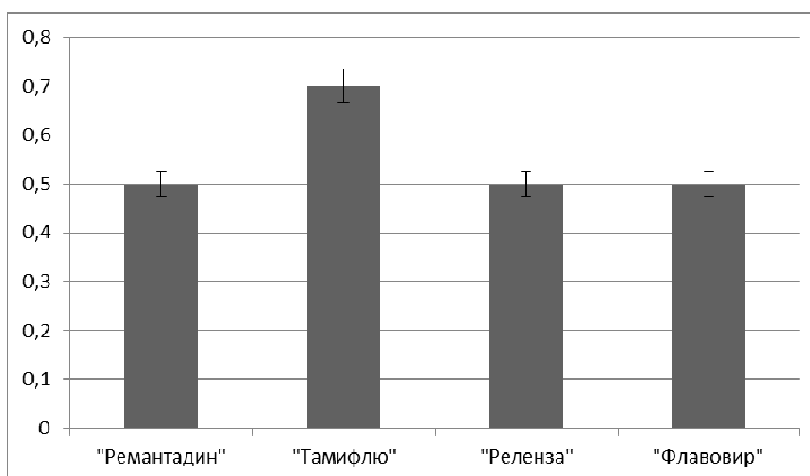


Рисунок 4 – Изучение профилактического действия препарата «Флавовир» in vitro на модели вируса гриппа двух подтипов (H5N3 и H3N2)

Профилактическую активность препарата «Флавовир» в опытах in vivo оценивали при заражении мышей вирусом гриппа A/Aichi/2/68. Профилактическое действие определяли в соответствии с результатами измерения остаточной инфекционности вируса гриппа в легких мышей и определения массы тела зараженных животных, предварительно получавших противовирусный препарат. Результаты исследования представлены на рисунке 5.



Примечание. По оси ординат разница титра инфекционности (lg) в легких мышей между группами мышей, получавшими препарат и не получавшими препарат.

Рисунок 5 – Изучение профилактического действия препарата «Флавовир» в опытах in vivo при заражении мышей вирусом гриппа, штамм A/Aichi/2/68 (H3N2)

Показано, что остаточная инфекционность вируса гриппа в легких зараженных мышей после профилактического применения препарата «Флавовир» в дозе 200,0 мкг/мышь уменьшалась на 0,50lg, что было сопоставимо с профилактической активностью коммерческих противовирусных препаратов «Реленза» и «Ремантадин», и незначительно уступало профилактической активности противовирусного препарата «Тамифлю» (0,7 lg).

Заключение. Растения являются богатым источником для получения различных лекарственных средств, в том числе препаратов, обладающих противовирусной активностью. Достоинством противовирусных препаратов растительного происхождения является их широкий спектр биологической активности и способность воздействовать на различные этапы репродукции вируса.

Ранее была показана высокая антивирусная активность у ряда соединений терпеноидной и флавоноидной природы, выделенных из растений флоры Казахстана [6-9]. Одним из перспективных препаратов является «Флавомир» – противовирусное средство на основе флавоноидов растительного происхождения [10].

В настоящей работе было проведено изучение профилактической и терапевтической активности препарата «Флавомир» в модельных экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Показано, что терапевтическая активность препарата «Флавомир» превосходит терапевтическую активность коммерческих препаратов «Реленза» и «Ремантадин» и сопоставима с активностью импортного коммерческого противогриппозного препарата «Тамифлю».

Анализ профилактических свойств препарата «Флавомир» показал его способность защищать от инфекции, вызываемой вирусом гриппа различных антигенных подтипов. При этом профилактическая активность противовирусного препарата «Флавомир» была сравнима с профилактической активностью известных коммерческих противогриппозных препаратов «Ремантадин», «Реленза» и «Тамифлю». Важно, что данный препарат растительного происхождения был способен блокировать размножение эпидемически значимых штаммов вируса гриппа, а также штаммов, обладающих резистентностью к коммерческим противовирусным препаратам. Полученные результаты позволяют считать перспективной дальнейшую разработку противовирусного препарата «Флавомир» в качестве эффективного лекарственного средства для лечения и профилактики гриппозной инфекции.

Благодарности. Работа выполнена в рамках программы исследований 0113PK00473, финансируемой Министерством образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Nelson K., Williams C. Infection disease epidemiology: theory and practice. “Jones and Bartlett Learning”. – Burlington. – USA, 2014. – 940 p.
- [2] Woodland D.L. Chronic viral infections // *Viral immunology*. – 2014. – Vol. 27, N 1. – P. 1-15.
- [3] Chin T., Mac Gowan A., Jacobson S., Donati. Viral infections in pregnancy: advice for healthcare workers // *Journal of Hospital Infection*. – 2014. – Vol. 87, N 1. – P. 11-24.
- [4] Toohar R., Collins J., Street J., Braunack-Mayer, Marshall H. Community knowledge, behaviors and attitudes about the 2009 H1N1 influenza pandemic: a systematic review // *Influenza and other respiratory viruses*. – 2013. – Vol. 7, N 6. – P. 1316-1327.
- [5] Tlaxca J., Ellis S., Remmele R. Live attenuated and inactivated viral vaccine formulation and nasal delivery: potential and challenges // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2014. – N 1. – P. 14-23.
- [6] Bogoyavlenskiy A., Turmagambetova A., Uzunzhasova A., Babenko A., Zaitceva I., Alexyuk M., Sokolova N., Korulkin D., Alexyuk P., Berezin V. Antiviral activity of quercetin and its derivatives//25th Annual Meeting of the Society for Virology, Bochum, Germany, 2015. – P. 310.
- [7] Жанымханова П.Ж., Тойгамбекова Н.Н., Есмаганбетова А.М. и др. Изучение противовирусной активности некоторых флавоноидов и их производных // Доклады НАН РК. – 2015. – № 3. – С. 179-184.
- [8] Богоявленский А.П., Турмагамбетова А.С., Березин В.Э. Противовирусные препараты растительного происхождения // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 6 (часть 5). – С. 1141-1146.
- [9] Соколова Н.С., Турмагамбетова А.С., Зайцева И.А., Алексюк М.С., Анаркулова Э.И., Аканова К.С., Молдаханов Е.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э. Соединения с циклогексановым углеродным скелетом как ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. – 2013. – № 3/2(59). – С. 425-426.
- [10] Турмагамбетова А.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э., Зайцева И.А., Соколова Н.С., Алексюк М.С., Алексюк П.Г. Композитное противовирусное средство растительного происхождения «Флавомир» – инновационный патент Республики Казахстан, № 30638, опубл. 15.12.2015г.
- [11] Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // *Amer. J. Hyg.* – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
- [12] Закстельская Л.Я., Шендерович С.Ф. Метод удаления неспецифических ингибиторов гемагглютинации из диагностических и постинфекционных сывороток // *Вопросы вирусологии*. – 1979. – № 5. – С. 560-561.
- [13] Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975. – 296 с.

REFERENCES

- [1] Nelson K., Williams C. Infection disease epidemiology: theory and practice. “Jones and Bartlett Learning”, Burlington, USA, 2014, 940 p (in Eng.).
- [2] Woodland D.L. Chronic viral infections. *Viral immunology*, 2014, Vol. 27, N 1. P. 1-15 (in Eng.).
- [3] Chin T., Mac Gowan A., Jacobson S., Donati. Viral infections in pregnancy: advice for healthcare workers. *Journal of Hospital Infection*, 2014, Vol. 87, N 1. P. 11-24 (in Eng.).
- [4] Toohar R., Collins J., Street J., Braunack-Mayer, Marshall H. Community knowledge, behaviors and attitudes about the 2009 H1N1 influenza pandemic: a systematic review. *Influenza and other respiratory viruses*, 2013, Vol. 7, N 6. P. 1316-1327 (in Eng.).

- [5] Tlaxca J., Ellis S., Remmele R. Live attenuated and inactivated viral vaccine formulation and nasal delivery: potential and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2014**, N 1. P. 14-23 (in Eng.).
- [6] Bogoyavlenskiy A., Turmagambetova A., Uzunzhasova A., Babenko A., Zaitceva I., Alexyuk M., Sokolova N., Korulkin D., Alexyuk P., Berezin V. Antiviral activity of quercetin and its derivatives. *25th Annual Meeting of the Society for Virology, Bochum, Germany*, **2015**, P. 310 (in Eng.).
- [7] Zhanymhanova P.Zh., Tojgambekova N.N., Esmaganbetova A.M. et al. *Issues of the NAS of the RK*, **2015**, N 3, P. 179-184 (in Russ.).
- [8] Bogoyavlenskiy A.P., Turmagambetova A.S., Berezin V.E. *Fundamental'nye issledovaniya*, **2013**, N 6 (part 5). P. 1141-1146 (in Russ.).
- [9] Sokolova N.S., Turmagambetova A.S., Zaitceva I.A., Alexyuk M.S., Anarkulova E.I., Akanova K.S., Moldakhanov E.S., Bogoyavlenskiy A.P., Berezin V.E. *KazNU BULLETIN, Biology series*, **2013**, №3/2 (59), P. 425-426 (in Russ.).
- [10] Turmagambetova A.S., Bogoyavlenskiy A.P., Berezin V.E., Zaitceva I.A., Sokolova N.S., Alexyuk M.S., Alexyuk P.G. *Innovative patent of the Republic of Kazakhstan*, № 30638, from. **15.12.2015** (in Russ.).
- [11] Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Amer.J.Hyg.*, **1938**, Vol. 27, P. 493-497 (in Eng.).
- [12] Zakstel'skaja L.Ja., Shenderovich S.F. *Voprosy virusologii*, **1979**, №5, C. 560-561 (in Russ.).
- [13] V.Ju. Urbah. *Moscow: Meditsina*, **1975**, 296 p. (in Russ.).

**IN VITRO ЖӘНЕ IN VIVO ЖАҒДАЙЫНДА ӨСІМДІК ТЕКТІ ЖАҢА
ВИРУСҚА ҚАРСЫ «ФЛАВОВИР» ПРЕПАРАТЫНЫҢ ТЕРАПИЯЛЫҚ
ЖӘНЕ ПРОФИЛАКТИКАЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІН БАҒАЛАУ**

А. С. Тұрмағамбетова, Э. С. Омиртаева, М. С. Алексюк, А. П. Богоявленский, В. Э. Березин

ҚР БҒМ ҒК Микробиология және Вирусология институты РМК, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: флаваноидтар, тұмау вирусы, вирусқа қарсы препараттар, жұқпалықты басу.

Аннотация. Вирустар адамдардың, жануарлардың және өсімдіктердің жұқпалы ауруларының 60% қоздырғышы болып табылады. Қазіргі кездегі халықтың көпші-қон жылжымалығына байланысты жер шарының бір бөлігінде бұрқ пайда болған аурудың кез келген басқа аймағына қауіп ретінде қарастырылуы мүмкін. Қазіргі заманғы вирусологияның өзекті мәселелердің бірі жаңа вирусқа қарсы, емдік және профилактикалық препараттар өңдеу болып табылады. Өсімдік текті препараттар кең ауқымды биологиялық белсенділікке және вирустың клеткамен өзара іс-қимылдарының әр түрлі кезеңдеріне әсер ету қабілетіне ие болып саналады. Қазақстан өсімдік флорасынан бөлініп алынған терпенді және флавоноид текті қосылыстардың жоғары вирусқа қарсы белсенділігі анықталды. Жұмыста өсімдік текті вирусқа қарсы «Флавомир» препараттың профилактикалық және терапиялық белсенділіктері зерттелді. In vitro және in vivo жағдайындағы модельді тәжірибесін сынау кезінде осы препараттың жоғары терапиялық белсенділігі анықталды. «Флавомир» препараттың терапиялық белсенділігі «Реленза» мен «Ремантадин» коммерциялық препараттарының терапиялық белсенділігінен асып түседі және импорттық коммерциялық «Тамифлю» тұмауға қарсы препараттың белсенділігімен сәйкес келетіні көрсетілді. In vitro тәжірибелерде «Флавомир» препараттың H3N2 кіші түр тұмау вирусына қатысты орташа профилактикалық белсенділікті және коммерциялық вирусқа қарсы препараттарға төзімді H5N3 антигенді кіші түрдегі резистентті тұмау вирусына айқын профилактикалық белсенділікті көрсетті. In vivo тәжірибелерде «Реленза» мен «Ремантадин» коммерциялық препараттарының профилактикалық белсенділігімен салыстырғанда, эпидемиялық маңызды тұмаудың H3N2 штаммына қатысты «Флавомир» препараттың жоғары профилактикалық белсенділігі анықталды.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 127 – 137

**ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF METHYLATION GENES *P16*
AND *SEPT9* WITH THE RISK OF COLORECTAL CANCER****A. V. Perfilyeva¹, S. E. Abdikerim¹, K. B. Djantayeva¹, O. A. Ixan¹, O. B. Muchambetov¹,
S. A. Kasimuratova¹, E. B. Kuzovleva¹, K. S. Utegenova¹, G. S. Zhunussova¹,
E. M. Khussainova¹, G. A. Afonin², B. O. Bekmanov¹, L. B. Djansugurova¹**¹«Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,²Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan

E-mail: nastyaper2009@mail.ru

Keywords: colorectal cancer, DNA methylation, epigenetics.**Abstract.** Conducted molecular genetic analysis of cell cycle regulating and cell proliferation – *p16*, *SEPT9* gene promoters in health patient and during development of colorectal cancer. Identified the potential practical test for methylation of the promoter region of the *p16* gene in intestinal tissue and *SEPT9* gene in intestinal tissue and in peripheral blood for the diagnosis of colorectal cancer.

УДК 577.2:616-006

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *P16* И *SEPT9*
С РИСКОМ РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА****А. В. Перфильева¹, С. Е. Абдикерим¹, К. Б. Джантаева¹, О. А. Иксан¹, О. Б. Мухамбетов¹,
С. А. Касимуратова¹, Е. Б. Кузовлева¹, К. С. Утегенова¹, Г. С. Жунусова¹, Э. М. Хусайнова¹,
Г. А. Афонин², Б. О. Бекманов¹, Л. Б. Джансугурова¹**¹«Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,²Казахский Национальный Медицинский Университет им. С. Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан**Ключевые слова:** колоректальный рак, метилирование ДНК, эпигенетика.**Аннотация.** Проведен молекулярно-генетический анализ метилирования промоторов генов регуляции клеточного цикла и пролиферации клеток *p16*, *SEPT9* в норме и при развитии колоректального рака. Выявлен практический потенциал теста на метилирование промоторной области гена *p16* в ткани кишечника и гена *SEPT9* в ткани кишечника и периферической крови для диагностики колоректального рака.

В последнее десятилетие в большинстве цивилизованных стран мира отмечается неуклонное увеличение показателей заболеваемости населения колоректальным раком (КРР). Согласно данным Международного агентства по изучению рака КРР является третьей по частоте злокачественной опухолью у мужчин (после бронхолегочного рака и рака простаты) и второй – у женщин (после рака молочных желез) [1]. Ежегодная заболеваемость достигает 1 миллиона случаев, а ежегодная смертность превышает 500 000 человек. По прогнозам экспертов в последующие два десятилетия количество больных КРР будет возрастать за счет увеличения количества населения планеты и роста доли в нем пожилых людей.

В Республике Казахстан КРР занимает 4-ое место в структуре заболеваемости среди всех онкопатологий и 3 место в структуре смертности. 5-летняя выживаемость составляет менее 47%.

Это связано с тем, что большинство пациентов поступают в онкологические, хирургические, колопроктологические стационары с запущенными стадиями заболевания, нередко на фоне развившихся осложнений, таких как кишечная непроходимость, параканцероматозные инфильтраты, абсцесс, кровотечение. Все это существенно ухудшает непосредственные и отдаленные результаты лечения больных [2].

Важнейшим условием успешного лечения КРР является обнаружение опухолевого процесса на ранних стадиях. Это свидетельствует о необходимости изыскания способов раннего выявления рака и предраковых заболеваний толстого и прямого кишечника. Одним из путей является проведение скрининга. Конечной целью онкологического скрининга принято считать снижение смертности больных, а непосредственным результатом – обнаружение рака до момента клинического проявления.

Согласно рекомендациям Американского онкологического сообщества в Республике Казахстан в 2011 г введен скрининг на раннее выявление предопухолевых и опухолевых заболеваний толстой и прямой кишки, и тест на определение «скрытой» крови в стуле является первым этапом программы скрининга КРР. Однако помимо трудностей в методологии проведения теста сообщается также об его ограниченной чувствительности. При выявлении положительного результата на «скрытую» кровь врачом поликлиники пациент направляется на колоноскопию при наличии показаний. Однако колоноскопия – не всегда идеальный метод диагностики, особенно плоских аденом [3]. Кроме того она требует длительных временных затрат, тщательной подготовки, крайне некомфортной для пациента, что является частой причиной отказа от прохождения рекомендуемых профилактических осмотров.

В последние годы все чаще предпринимаются попытки использовать молекулярно-генетические методики для выявления пациентов с высоким риском развития КРР. Диагностическое и прогностическое значение может иметь эпигенетическое метилирование ключевых генов колоректального канцерогенеза.

Метилирование происходит путем ферментативного присоединения метильной группы к цитозину в составе ДНК. В ДНК млекопитающих, большая часть 5'-метилцитозинов сосредоточена в 5'-CpG-3' динуклеотидах. Гиперметилирование CpG-островков приводит к стабильной инактивации прилежащего гена, то есть феномену MAGI (*methylation-associated gene inactivation*). Это происходит в результате возникновения препятствий к связыванию транскрипционных факторов или гетерохроматинизации, опосредованной метилцитозин-связывающими белками MBD [4]. Если прилежащим геном окажется ген домашнего хозяйства, то его инактивация будет летальна для клетки, но не будет иметь особых последствий для организма. Подавление экспрессии какого-либо из тканеспецифических генов нанесет определенный ущерб дифференциальному фенотипу клетки, не оказывая влияния на общую жизнеспособность. В то же время, инактивация гена опухолевой супрессии может создать условия для неконтролируемой пролиферации и развития рака.

Целью настоящего исследования было изучение ассоциации статуса метилирования генов *p16* и *SEPT9*, участвующих в регуляции клеточного цикла и пролиферации клеток, с риском развития КРР.

Материалы и методы исследования

На базе ГКП на ПХВ «Алматинский онкологический центр» и КГКП «Региональный онкологический диспансер г. Семей» собран клинический материал для исследования, представляющий больных колоректальным раком из г. Алматы и г. Семей. Всего собрано: образцы опухолевой ткани 37 больных КРР, из них у троих пациентов одновременно с биопсией опухолевой ткани были взяты образцы периферической непораженной ткани кишечника, у 13 пациентов – периферическая кровь.

После забора проводили подробное анкетирование, а также оформляли добровольное информированное согласие. Анкеты были разработаны в лаборатории молекулярной генетики Института общей генетики и цитологии. Разработку формы добровольного информированного согласия, информационного листка для пациента, протокола исследования и другие необходимых документов проводили под руководством члена авторского коллектива Б. К. Хайдарова совместно с

сотрудниками кафедры онкологии, маммологии и лучевой терапии КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова. Этическая комиссия в 2012 г. при РГП на пхв «Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова» дала одобрение на проведение исследования. Все анкетные данные и истории болезней были обработаны и внесены в электронную базу данных.

Подбор контрольной группы проводился на базе данных (анкетные данные и данные клинических обследований) лаборатории молекулярной генетики. Клинический материал от этих людей был собран в 2008–2014 гг. в ходе выполнения проектов проведенных в Институте общей генетики и цитологии КН МОН РК (Алматы, Казахстан). Замороженные образцы крови и ДНК (–20 – –80°C) хранятся в биобанке. Всего для контрольной группы были отобраны образцы периферической крови 37 условно здоровых лиц.

Выделение ДНК. ДНК из образцов периферической крови и ткани выделялись использованием набора для быстрого выделения ДНК «*Genomic DNA Purification Kit*» (*Thermo Fisher Scientific*, США) и методом фенол-хлороформной экстракции. Количество и качество выделенной ДНК оценивали при помощи спектрофотометра и электрофореза в 0,7% агарозном геле. Образцы ДНК хранили при –20 и –80°C.

Метил-чувствительная полимеразная цепная реакция. Для определения метилирования промоторной области генов был использован метод метил-чувствительной ПЦР (МЧ-ПЦР). Метод основан на способности метил-чувствительной рестриктазы *Hin6I* (*Thermo Fisher Scientific*, США) расщеплять 5'-GCGC-3' последовательности ДНК, не подвергшиеся метилированию, и оставлять негидролизованными 5'-GCGC-3' участки, содержащие метилцитозин. В случае метилирования промоторной области гидролиз ДНК не происходит, и продукт ПЦР может быть выявлен в агарозном геле. При отсутствии метилирования происходит полный гидролиз ДНК, и продукт ПЦР не выявляется в агарозном геле.

Метод включает в себя два этапа:

– гидролиз геномной ДНК. ДНК в количестве 150 нг расщепляли 40 U метил-чувствительной рестриктазы *Hin6I* в реакционном буфере при 37 °C в течение 12 ч.

– полимеразная цепная реакция. 50 нг гидролизованной и 50 нг негидролизованной ДНК были амплифицированы в 20 µl ПЦР смеси, включающей 10 µl 2× *PCR MasterMix* (0.05 U/µl *TaqDNA polymerase*, *reaction buffer*, 4 mM $MgCl_2$, 0.4m M of each dNTP (*Thermo Fisher Scientific*, США)) и 5 пМоль каждого праймера.

Негидролизованная ДНК была включена в эксперимент в качестве контроля для подтверждения того, что отсутствие продукта амплификации гидролизованной ДНК является результатом рестрикционного расщепления ДНК, а не ошибочной постановки ПЦР или низкого качества ДНК-матрицы. Для дизайна соответствующих праймеров были исследованы промоторные последовательности изучаемых генов в базе данных геномов *NCBIGeneBank* и *SwitchGearGenomics*. Генерация праймеров и проверка их комплементарности соответствующим генам проведена по алгоритму *PrimerBLASTGenBank* (таблица 1). Для сгенерированных праймеров был проведен анализ возможного образования вторичных структур с помощью программы *OligoAnalyzer 3.1*. Праймеры подбирались так, чтобы амплифицируемый фрагмент содержал не менее 1 и не более 9 сайтов узнавания для рестриктазы *Hin6I*.

Таблица 1 – Последовательность праймеров для МЧ-ПЦР

| Название праймера | Последовательность (5' → 3') | Размер ПЦР-продукта bp |
|-------------------|------------------------------|------------------------|
| <i>p16</i> | CCTCCTGATTGGCGGATAGA | 216 |
| | CCCTAGCTACATCCGTCACC | |
| <i>SEPT9</i> | TTGCATCCTCTCACCCTGC | 185 |
| | GCAGAGTGCGTCGATTGAGT | |

Амплификацию проводили в 20 мкл в приборе «*Master cycler nexus gradient*» (*Eppendorf*, Германия) с использованием *PCR MasterMix* (*Thermo Fisher Scientific*, США) при следующих температурных условиях: 1 мин. денатурации при 95°C, за которой следовали 35 циклов амплификации в режиме 95°C – 1 мин., 60°C – 1 мин., 72°C – 1 мин. и реакция была завершена при

температуре 72°C в течение 5 мин. с последующим охлаждением до температуры 4°C. Визуализацию амплификатов проводили в 1,4% агарозном геле.

Методы статистической обработки результатов. Достоверность различий (P) между группами определяли с использованием Chi^2 и *t*-критерия Стьюдента. Достоверным считался результат, для которого уровень значимости *p* не превышал 0,05 (5% ошибки). Для расчета характеристик диагностического теста использовали калькулятор веб-сайта кафедры теоретической биохимии с курсом клинической биохимии *Волгоградского государственного медицинского университета (Волгоград, Россия)*. Данный калькулятор позволяет рассчитать чувствительность, специфичность диагностического теста и его предсказательную (прогностическую) ценность с использованием «латинского квадрата».

Результаты и их обсуждение

Характеристика контрольной группы и групп больных КРР. Всего в группе больных КРР было 37 человек. Подбор контрольной группы проводился на основе анализа базы данных (анкетные данные и данные клинических обследований) лаборатории молекулярной генетики. Клинический материал от этих людей был собран в 2008–2014 гг. в ходе выполнения проектов проведенных в Институте общей генетики и цитологии КН МОН РК. Замороженные образцы крови и ДНК (–20 - –80°C) хранятся в биобанке.

Всего для контрольной группы были отобраны образцы периферической крови 37 условно здоровых лиц. Контрольная популяция условно здоровых доноров подбиралась в максимально возможном соответствии с анкетными данными больных КРР людей по критериям национальности, возраста, пола и наличию или отсутствию вредных привычек (употребление табачной и алкогольной продукции). Также, контрольная группа не имела биологически родственных связей с пациентами и семейной истории злокачественных новообразований.

Социально-демографическая характеристика групп и данные по соответствию популяций больных КРР и здоровых людей представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Соответствие контрольной группы и группы больных

| Характеристика | | КРР N, % | Контроль N, % | <i>t_{st}</i> | <i>p</i> |
|------------------------------------|----------------------------|---------------|---------------|-----------------------|----------|
| Всего | | 37 | 37 | | |
| Национальность | Казахская | 17 (46) | 17 (46) | 0,031 | 0,980 |
| | Русская | 15 (41) | 16 (43) | 0,219 | 0,862 |
| | Др. азиаты | 5 (13) | 4 (11) | 0,344 | 0,789 |
| Возраст, лет | Средний | 60,08 ± 11,50 | 59,24±11,77 | 0,0510 | 0,968 |
| | Интервал | 31-80 | 31-79 | | |
| Пол | Мужской | 17 (46) | 17 (46) | 0 | 1,000 |
| | Женский | 20 (54) | 20 (54) | 0 | 1,000 |
| Употребление табачных изделий | Да (ранее или по сей день) | 13 (35) | 10 (27) | 0,610 | 0,651 |
| | Нет | 24 (65) | 27 (73) | 0,418 | 0,748 |
| Употребление алкогольной продукции | Да | 4 (11) | 6 (16) | 0,598 | 0,657 |
| | Нет | 33 (89) | 31 (84) | 0,250 | 0,844 |

Национальный состав обеих групп не имел статистически значимых различий: 46% казахов, 41% русских и 13% др. азиат в группе КРР; 46% казахов, 43% русских и 11% др. азиат в группе контроль. Среди других азиатских национальностей в группе КРР были 1 представитель корейской национальности, 2 – татарской, 2 – уйгурской; в контрольной группе – 1 представитель корейской национальности, 1 – татарской, 2 – уйгурской. Средний возраст в обеих группах также не имел статистически значимых различий: 60,08 ± 11,50 – в группе КРР и 59,24±11,77 в группе контроль. Соотношение полов в группах было идентичным: 46% мужчин и 54% женщин.

В отношении наличия или отсутствия вредных привычек когорты делились на две подгруппы: в одну из них входили употребляющие табачные или алкогольные изделия в настоящее время или употреблявшие ранее, в другую входили никогда не курившие и не употреблявшие алкогольную продукцию. Сравнительная характеристика по этим критериям группы больных КРР с группой контроль не имела статистически значимой разницы.

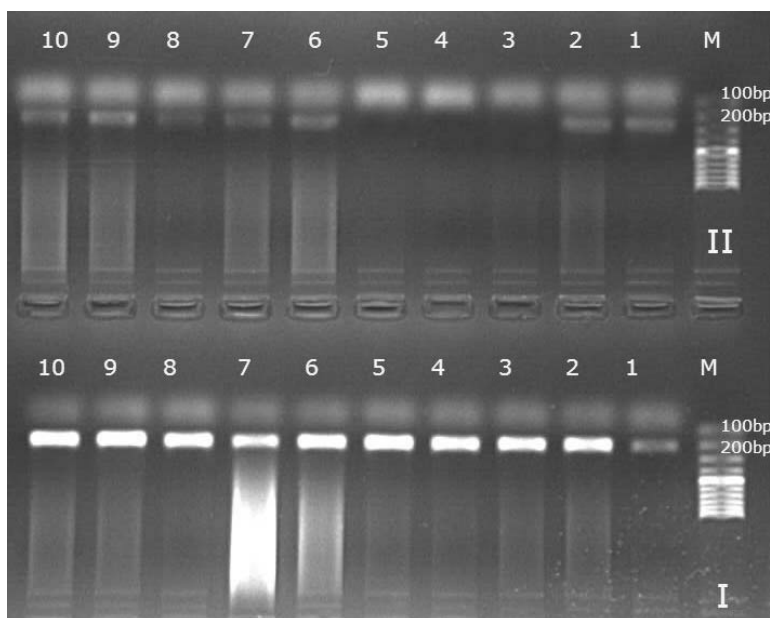
Среди больных КРР 16 (43%) пациентов имели рак толстой кишки, 21 (57%) – прямой кишки. Распределение пациентов с КРР по стадиям было следующим: I–II стадии – 26 (70%) человек, III–IV стадии – 11 (30%) человек.

Из клинического материала контрольной группы и группы КРР была выделена ДНК и далее использовалась для молекулярно-генетического анализа метилирования генов опухолевой супрессии.

Анализ метилирования гена *p16*. В локусе 9p21 клонировано и картировано два гена: ген *p16/INK4A/CDKN2A/MTS1* и ген *p19/ARF*. Белок – супрессор опухолевого роста p16 играет ключевую роль в контроле клеточного цикла. На молекулярном уровне действие белка p16 основано на ингибировании регуляторов клеточного цикла. Белок p16 – ингибитор циклин-зависимых киназ и является участником биохимического пути *Rb/cyclinD/cdk4/p16INK4a*. Утрата этого белка или его инактивация ведут к тому, что клетка теряет контроль над клеточным циклом. Экспериментально показано, что снижение экспрессии p16 приводит к гиперфосфорилированию pRB. В таком состоянии этот белок не может оставаться связанным с фактором транскрипции E2F. Поэтому комплекс RB-E2F диссоциирует и свободный фактор E2F активирует транскрипцию генов, специфичных для S фазы (*S-phase-specific-gene*). Происходит вхождение клетки в S фазу клеточного цикла.

Ген *p16* может быть инактивирован путем метилирования его промоторной области, без наличия каких-либо точковых мутаций в его последовательности [5]. Подобные изменения гена могут происходить в процессе канцерогенеза, поэтому метилирование *p16* изучается в качестве маркера различных онкологических заболеваний.

В данной работе был исследован статус метилирования промотора гена *p16* при развитии колоректального рака методом метил-чувствительной ПЦР со специфичными праймерами (рисунок 1).



I – продукты контрольной амплификации негидролизованного участка промоторной области гена *p16* (фрагмент в области 216 bp).

II – продукты амплификации гидролизованного метилчувствительной рестриктазой *HinfI* участка промоторной области гена *p16*, положительный сигнал (фрагмент в области 216 bp) указывает на метилирование (образцы 1,2,6-10).

Рисунок 1 – Анализ метилирования промоторной области гена *p16* в образцах опухолевой ткани кишечника, электрофорез в 1,4% геле

В результате анализа статуса метилирования гена *p16* получены следующие результаты: в 16 образцов опухолевой ткани кишечника из 37 обследованных было выявлено метилирование промоторной области данного гена, что составило 43% (таблица 3).

Таблица 3 – Диагностические характеристики теста на метилирование промоторной последовательности гена *p16* для выявления КРР

| Группа: | <i>p16</i> метил в ткани | | <i>p16</i> метил в крови | |
|--|--------------------------|----------|--------------------------|---------|
| | да | нет | да | нет |
| КРР, чел. | 16 (43%) | 21 (57%) | 1 (8%) | 12(92%) |
| Контроль, чел. | | | 1 (3%) | 36(97%) |
| t_{st} | 0,963 | 1,793 | 0.714 | 0.156 |
| p | 0,326 | 0,181 | 0.398 | 0.693 |
| Диагностическая чувствительность | 43,24% | | 7,96% | |
| Диагностическая специфичность | 97,29% | | 97,29% | |
| Прогностическая ценность положительного результата | 94,11% | | 50% | |
| Прогностическая ценность отрицательного результата | 36,84% | | 25% | |
| Диагностическая эффективность теста | 70,27% | | 74% | |

Кроме того, у 3 пациентов с II, III и IV стадиями, помимо метилирования в малигнизированном эпителии, аналогичное эпигенетическое изменение имело место в гистологически нормальной, прилежащей к опухоли ткани. Данный факт позволяет предположить, что метилирование данного гена является ранним молекулярным маркером злокачественной трансформации КРР, определяемым уже на II стадии. Однако стоит учитывать, что наличие метилирования в прилежащей к опухоли ткани может быть связано и с контаминацией исследуемого материала опухолевыми клетками.

В 13 обследованных образцах периферической крови пациентов с КРР метилирование было обнаружено только в одном случае (8%), при этом у этого пациента имело место метилирование также в опухолевой, и непораженной периферической ткани кишечника. Стоит отметить, что у данного пациента диагностировался рак прямой кишки IV стадии с метастазами в печень и субкомпенсированной толстокишечной непроходимостью. По-видимому, подобная картина выявления метилирования как в образцах ткани, так и в образцах крови пациента обусловлена широким распространением *опухолевых клеток* с током крови при метастазировании.

Анализ корреляции метилирования промоторной области гена *p16* с локализацией опухоли позволил установить, что метилирование этого гена больше ассоциируется с опухолями прямой кишки (10/16), чем с опухолями ободочной кишки (6/16). Возможно, этот факт связан с тем, что в выборке пациентов с КРР была большая доля больных раком прямой кишки.

В ДНК крови 37 здоровых доноров метилирование промоторного района гена было определено в 1 случае (3%).

Анализ диагностических характеристик теста на метилирование промоторной последовательности гена *p16* в ткани кишечника для выявления КРР дал следующие результаты: чувствительность – 43,24%, специфичность – 97,29%, прогностическая ценность положительного результата – 94,11% и отрицательного результата – 36,84%, диагностическая эффективность теста – 70,27%. Диагностические характеристики теста на метилирование промоторной последовательности гена *p16* в крови для выявления КРР следующие: чувствительность – 7,96%, специфичность – 97,29%, прогностическая ценность положительного результата – 50% и отрицательного результата – 25%, диагностическая эффективность теста – 74% (таблица 3). Невысокие показатели чувствительности в данном случае могут объясняться небольшим числом исследованных образцов крови в группе КРР.

Литературные данные о связи метилирования гена *p16* с развитием КРР достаточно многочисленны. В исследовании Goto [6] статус метилирования *p16* был изучен в 50 образцах опухо-

левой ткани первичного КРР и соответствующих 50 контрольных образцах нормальной ткани методом количественной ПЦР (qMSP). Абберантное метилирование было обнаружено в 20 случаях из 50 (40%), представляющих КРР. Достоверная ассоциация была выявлена с более поздними стадиями по Duke ($p = 0.0495$) и инвазией в регионарные лимфатические узлы ($p = 0.0277$).

Было проведено ряд работ по определению метилирования промотора *p16* в сыворотке крови больных КРР. В работе *Esteller* [7] метилирование обнаружено в 42 из 113 (37%) случаев первичного колоректального рака, кроме того этот показатель был ассоциирован с плохим прогнозом выживаемости пациента. В работе *Nakayama* [8] частота метилирования *p16* в сыворотке крови больных с первичным КРР составила 47%. В позднем исследовании этого же автора [9] аномальное метилирование промотора гена *p16* обнаружено в 24 из 34 (71%) образцов сыворотки ДНК, взятых у больных с рецидивом КРР. Сравнение этих данных с предыдущим исследованием позволило автору сделать вывод о возможном использовании данного маркера для оценки вероятности рецидива после хирургического удаления опухоли кишечника. В работе *Zou* [10] гиперметилирование промотора *p16* было выявлено в опухолевой ткани у 20 из 52 (38%) больных КРР. Среди этих 20 пациентов наличие метилирования этого же гена в сыворотке крови определялось у 14 (70%). Не было выявлено данного эпигенетического изменения в сыворотке крови у представителей контрольной группы, включающей 34 пациента с аденоматозным полипозом и 10 здоровых волонтеров. Более того, было показано, что метилирование *p16* в сыворотке ассоциировалось с более поздними стадиями заболевания.

В 2013 г. был опубликован мета-анализ 11 исследований 3440 пациентов [11]. Показана достоверная корреляция между неблагоприятным прогнозом общей выживаемости и наличием в геноме гиперметилирования гена *p16* (HR = 1,65, 95% CI 1,29–2,11). Более того, была выявлена ассоциация этого биомаркера с лимфоваскулярной инвазией (OR = 1,68, 95% CI 1,15–2,47), метастазами в регионарные лимфоузлы (OR = 1,68, 95% CI 1,09–2,59) и проксимальной локализацией опухоли (OR = 2,09, 95% CI 1,34–3,26) при развитии КРР.

Таким образом, результаты нашей работы совпадают с результатами других опубликованных исследований о наличии ассоциации метилирования гена *p16* с развитием колоректального рака.

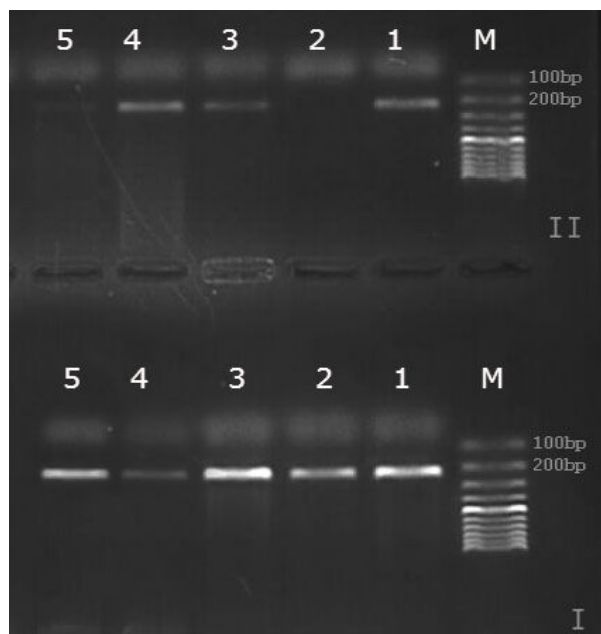
Анализ метилирования гена *SEPT9*. Ген септина 9 (известного также как септиноподобный слитый белок MLL, септиноподобный слитый белок MLLMSF-A, *Slpa*, эсептин, *Msf*, септиноподобный белок яичников/септин молочной железы (септинOv/Br) и септин D1) находится на хромосоме 17q25 и является членом семейства генов септина. Семейство септинов у человека включает 13 генов (*Sept1-13*), каждый из которых в результате альтернативного сплайсинга «рождает» несколько вариантов тканеспецифичных септинов [12]. *SEPT9* имеет по меньшей мере семь транскриптов, которые кодируют пять изоформ белка (*SEPT9_v1-SEPT9_v5*) [13].

Септины состоят из полиосновного (из остатков основных аминокислот) и ГТФ-связывающего доменов. Биологическая функция септинов связана с их способностью собираться в полимеры (в виде колец, спиралей пучков и сеток), которые могут формировать каркасы (для прикрепления определенных белков) и барьеры для диффузии везикул и крупных молекул [14]. Таким образом в клетках млекопитающих септины участвуют в создании клеточной полярности, компарментализации (создании обособленных «отсеков» в цитоплазме, в пределах которых ограничено передвижение везикулярных структур и макромолекул), везикулярном транспорте, регуляции актинового и тубулинового цитоскелета, процессах экзо- и эндонитоза [15]. Септины формируют уникальные сети, характеризующиеся мультифункциональностью, внутренним непостоянством и динамичной чувствительностью.

Повреждение экспрессии септинов у человека сопровождается онкологическими и другими заболеваниями [16]. Одним из механизмов нарушения экспрессии гена является метилирование его промоторной последовательности.

В данной работе был исследован статус метилирования промотора гена *SEPT9* при развитии колоректального рака. Для определения метилирования был использован метод МЧ-ПЦР со специфичными праймерами (рисунок 2).

В результате анализа были получены следующие результаты: для 20 образцов опухолевой ткани кишечника из 37 обследованных было показано метилирование промоторной области гена *SEPT9*, что составило 54% (таблица 4).



I полоса – продукты контрольной амплификации негидролизованного участка промоторной области гена *SEPT9* (фрагмент в области 185 bp).

II полоса – продукты амплификации гидролизованного участка промоторной области гена *SEPT9*, положительный сигнал (фрагмент в области 185 bp) указывает на метилирование промоторной области данного гена (образцы 1, 3, 4, 5).

Рисунок 2 – Анализ метилирования промоторной области гена *SEPT9* в образцах опухолевой ткани кишечника, электрофорез в 1,4% геле

Таблица 4 – Диагностические характеристики теста на метилирование промоторной последовательности гена *SEPT9* для выявления КРР

| Группа | <i>SEPT9</i> метил в ткани кишечника | | <i>SEPT9</i> метил в крови | |
|--|--------------------------------------|----------|----------------------------|---------|
| | да | нет | да | нет |
| КРР, чел. | 20 (54%) | 17 (46%) | 8(62%) | 5 (38%) |
| Контроль, чел. | | | 12(32%) | 25(68%) |
| t_{st} | 1.289 | 1.170 | 1.448 | 0.948 |
| p | 0.256 | 0.279 | 0.229 | 0.330 |
| Диагностическая чувствительность | 54.05% | | 61,53% | |
| Диагностическая специфичность | 67.56% | | 67,56% | |
| Прогностическая ценность положительного результата | 62.5% | | 40% | |
| Прогностическая ценность отрицательного результата | 40.47% | | 16,66% | |
| Диагностическая эффективность теста | 60.81% | | 66% | |

Кроме того, у 2 пациентов с III и IV стадиями, помимо метилирования промотора септина 9 в малигнизированном эпителии, аналогичное эпигенетическое изменение имело место в гистологической нормальной, прилежащей к опухоли ткани. Данный факт позволяет предположить, что метилирование данного гена является ранним молекулярным маркером злокачественной трансформации КРР. Однако стоит учитывать, что наличие метилирования в прилежащей к опухоли ткани может быть связано и с контаминацией исследуемого материала опухолевыми клетками.

Из 13 обследованных образцов периферической крови пациентов с КРР метилирование было обнаружено в 8 случаях (62%). Интересно, что у двух пациентов метилирование промотора гена септина 9 было обнаружено в крови, но не было показано в опухолевой ткани их кишечника.

Возможная причина того, что метилирование гена обнаруживается в крови, но отсутствует в опухолевой ткани, может заключаться в гетерогенности опухоли. Вследствие этой гетерогенности, при отборе материала в биопсийный образец могли попасть опухолевые клетки, в которых не происходило метилирование.

Данным обстоятельством может быть объяснен и тот факт, что у одного пациента было обнаружено метилирование в периферической непораженной ткани кишечника, однако не идентифицировалось в опухолевой ткани.

Анализ корреляции метилирования промоторной области гена *SEPT9* с локализацией опухоли позволил установить, что метилирование этого гена в большей мере ассоциируется с опухолями прямой кишки (11/20), чем с опухолями ободочной кишки (9/20). Возможно, этот факт связан с тем, что в выборке пациентов с КРР была большая доля больных раком прямой кишки.

В ДНК крови 37 представителей контрольной группы метилирование промоторного района гена *SEPT9* было определено у 12 человек (32%).

Анализ диагностических характеристик теста на метилирование промоторной последовательности гена *SEPT9* в ткани кишечника для выявления КРР дал следующие результаты: чувствительность – 54,05%, специфичность – 67,56%, прогностическая ценность положительного результата – 62,5% и отрицательного результата – 40,47%, диагностическая эффективность теста – 60,81%. Аналогичные характеристики при проведении теста на метилирование *SEPT9* в периферической крови следующие: чувствительность – 61,53%, специфичность – 67,56%, прогностическая ценность положительного результата – 40% и отрицательного результата – 16,66%, диагностическая эффективность теста – 66% (таблица 4). Определение метилированной ДНК в гене *SEPT9* в качестве нового диагностического метода для скрининга КРР было изучено во многих зарубежных исследованиях.

При определении метилирования данного гена в периферической крови чувствительность данного метода в работе *Grützmann et al* [17] без учета стадии заболевания составила 90%, специфичность – 88%. При целенаправленном изучении метода на ранней стадии болезни чувствительность определения метилированной ДНК в гене *SEPT9* достигала 87% независимо от локализации опухоли [18].

В 2010 на *Digestive Disease Week* (DDW) были представлены результаты проспективного исследования 7 941 пациентов в возрасте 50 - 75 лет без симптомов КРР из 32 клиник США и Германии, которые прошли рутинное колоноскопическое исследование [19]. Кровь для исследования метилирования *SEPT9* была отобрана у каждого пациента, полученные результаты сравнивались с результатами колоноскопии. *SEPT9* тест был положительным в 67% случаев КРР и дал ложноположительный результат в 11%. Исследование убедительно показало, что указанный метод может быть эффективно использован у лиц, не имеющих специфических симптомов болезни.

В другой работе российских авторов [20] диагностическая чувствительность теста при определении метилированного гена *SEPT9* в крови составила 87,1%, специфичность – 96%, диагностическая эффективность – 90,6%, что превышало эффективность иммуногистохимического метода анализа кала на скрытую кровь (41,9%). Определение в крови метилированной ДНК гена *SEPT9* было эффективно при ранних стадиях рака толстой кишки, а также при проксимальной и дистальной локализациях опухоли, что позволило сделать вывод о возможности использования данного теста при затруднениях в проведении колоноскопии.

Таким образом, наши результаты согласуются с опубликованными данными других исследований об обнаружении метилирования гена *SEPT9* в клиническом материале пациентов с колоректальным раком.

В данной работе проведен молекулярно-генетический анализ статуса метилирования генов регуляции клеточного цикла и пролиферации клеток *p16* и *SEPT9* в норме и при патологии КРР. Результаты анализа свидетельствуют о практическом потенциале теста на метилирование промоторной области гена *p16* в ткани кишечника и гена *SEPT9* в ткани кишечника и периферической крови для диагностики КРР.

Предполагается дальнейший сбор клинического материала и увеличение объема как контрольной группы, так и группы больных с КРР для продолжения молекулярно-генетического исследования эпигенетических нарушений при развитии КРР.

Источник финансирования исследований. Работа была выполнена в рамках Гранта 3771/ГФ4 по теме: «Разработка системы эпигенетических маркеров для диагностики sporadических форм колоректального рака», финансируемой Государственным учреждением «Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан» на 2015–2017 гг.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // International Journal of Cancer. – 2010. – Vol. 127, N 12. – P. 2893-2917.
- [2] Турбекова М.Н., Егеубаева С.А. Современные подходы к раннему выявлению колоректального рака (литературный обзор) // Вестник КазНМУ. Онкология. – 2012. – № 1. – С. 137-141.
- [3] Da Silva J.G., De Brito T., Cintra Damiao A.O. et al. Histologic study of colonic mucosa in patients with chronic diarrhea and normal colonoscopic findings // J Clinical Gastroenterology. – 2006. – Vol. 40(1). – P. 44-48.
- [4] Robertson K.D., Jones P.A. DNA methylation: past, present and future directions // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 21(3). – P. 461-467.
- [5] Merlo A., Herman J.G., Mao L. et al. 5 CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor *p16/CDKN2/MTS1* in human cancers // Nature Med. – 1995. – Vol. 1. – P. 686-692.
- [6] Goto T., Mizukami H., Shirahata A. et al. Aberrant methylation of the *p16* gene is frequently detected in advanced colorectal cancer // Anticancer Res. – 2009. – Vol. 29(1). – P. 275-277.
- [7] Esteller M., Gonzalez S., Risques R.A. et al. *K-ras* and *p16* aberrations confer poor prognosis in human colorectal cancer // J Clin Oncol. – 2001. – Vol. 19. – P. 299-304.
- [8] Nakayama H., Hibi K., Taguchi M. et al. Molecular detection of *p16* promoter methylation in the serum of colorectal cancer patients // CancerLett. – 2002. – Vol. 188. – P. 115-119.
- [9] Nakayama H., Hibi K., Takase T. et al. Molecular detection of *p16* promoter methylation in the serum of recurrent colorectal cancer patients // IntJ Cancer. – 2003. – Vol. 105. – P. 491-493.
- [10] Zou H.Z., Yu B.M., Wang Z.W. et al. Detection of aberrant *p16* methylation in the serum of colorectal cancer patients // Clin Cancer Res. – 2002. – Vol. 8. – P. 188-191.
- [11] Xing X., Cai W., Shi H. et al. The prognostic value of *CDKN2A* hypermethylation in colorectal cancer: a meta-analysis // Br J Cancer. – 2013. – Vol. 108(12). – P. 2542-2548.
- [12] Hall P.A., Todd C.B., Hyland P.L. et al. The septin-binding protein anillin is overexpressed in diverse human tumors // Clin Cancer Res. – 2005. – Vol. 11. – P. 6780-6786.
- [13] Scott M., Hyland P.L., McGregor G. et al. Multimodality expression profiling shows *SEPT9* to be overexpressed in a wide range of human tumours // Oncogene. – 2005. – Vol. 24. – P. 4688-4700.
- [14] Sirajuddin M., Farkasovsky M., Hauer F. et al. Structural insight into filament formation by mammalian septins // Nature. – 2007. – Vol. 449. – P. 311-315.
- [15] Hall P., Russell S.E. The pathobiology of the septin gene family // J Pathol. – 2004. – Vol. 204. – P. 489-505.
- [16] Grützmann R., Molnar B., Pilarsky C. et al. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by *Septin9* DNA methylation assay // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3. – P. 1-8.
- [17] Weiss G., Fassbender A., Koenig T., Tetzner R. Sensitivity of second-generation blood-based methylated *Septin9* assay for early-stage colorectal cancer // J Clin Oncol. – 2012. – Vol. 30. – S4. – A419.
- [18] Church T.R., Wandell M., Lofton-Day C. et al. Prospective clinical validation of an assay for methylated *SEPT9* DNA in human plasma as a colorectal cancer screening tool in average risk men and women 50 years and older // Digestive Disease Week. – 2010. – P. 1-5. – LB-711d.
- [19] Бурцев Д.В., Кит О.И., Максимов А.Ю. Эффективность и оптимизация эпигенетических методов при молекулярном скрининге рака толстой кишки // Практическая медицина. – 2012. – № 61. – С. 90-94.

REFERENCES

- [1] Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // International Journal of Cancer. 2010. Vol. 127, N 12. P. 2893-2917.
- [2] Turbekova M.N., Egeubaeva S.A. Sovremennye podkhody k rannemu vyivleniiu kolorektalnogo raka (literaturnyi obzor) // Vestnik KazNMU. Onkologiya. 2012. N 1. P. 137-141.
- [3] Da Silva J.G., De Brito T., Cintra Damiao A.O. et al. Histologic study of colonic mucosa in patients with chronic diarrhea and normal colonoscopic findings // J Clinical Gastroenterology. 2006. Vol. 40(1). P. 44-48.
- [4] Robertson K.D., Jones P.A. DNA methylation: past, present and future directions // Carcinogenesis. 2000. Vol. 21(3). P. 461-467.
- [5] Merlo A., Herman J.G., Mao L. et al. 5 CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor *p16/CDKN2/MTS1* in human cancers // Nature Med. 1995. Vol. 1. P. 686-692.
- [6] Goto T., Mizukami H., Shirahata A. et al. Aberrant methylation of the *p16* gene is frequently detected in advanced colorectal cancer // Anticancer Res. 2009. Vol. 29(1). P. 275-277.
- [7] Esteller M., Gonzalez S., Risques R.A. et al. *K-ras* and *p16* aberrations confer poor prognosis in human colorectal cancer // J Clin Oncol. 2001. Vol. 19. P. 299-304.
- [8] Nakayama H., Hibi K., Taguchi M. et al. Molecular detection of *p16* promoter methylation in the serum of colorectal cancer patients // CancerLett. 2002. Vol. 188. P. 115-119.

- [9] Nakayama H., Hibi K., Takase T. et al. Molecular detection of *p16* promoter methylation in the serum of recurrent colorectal cancer patients // *Int J Cancer*. 2003. Vol. 105. P. 491-493.
- [10] Zou H.Z., Yu B.M., Wang Z.W. et al. Detection of aberrant *p16* methylation in the serum of colorectal cancer patients // *Clin Cancer Res*. 2002. Vol. 8. P. 188-191.
- [11] Xing X., Cai W., Shi H. et al. The prognostic value of *CDKN2A* hypermethylation in colorectal cancer: a meta-analysis // *Br J Cancer*. 2013. Vol. 108(12). P. 2542-2548.
- [12] Hall P.A., Todd C.B., Hyland P.L. et al. The septin-binding protein anillin is overexpressed in diverse human tumors // *Clin Cancer Res*. 2005. Vol. 11. P. 6780-6786.
- [13] Scott M., Hyland P.L., McGregor G. et al. Multimodality expression profiling shows *SEPT9* to be overexpressed in a wide range of human tumours // *Oncogene*. 2005. Vol. 24. P. 4688-4700.
- [14] Sirajuddin M., Farkasovsky M., Hauer F. et al. Structural insight into filament formation by mammalian septins // *Nature*. 2007. Vol. 449. P. 311-315.
- [15] Hall P., Russell S.E. The pathobiology of the septin gene family // *J Pathol*. 2004. Vol. 204. P. 489-505.
- [16] Grützmann R., Molnar B., Pilarsky C. et al. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by *Septin9* DNA methylation assay // *PLoS ONE*. 2008. Vol. 3. P. 1-8.
- [17] Weiss G., Fassbender A., Koenig T., Tetzner R. Sensitivity of second-generation blood-based methylated *Septin9* assay for early-stage colorectal cancer // *J ClinOncol*. 2012. Vol. 30. S4. A419.
- [18] Church T.R., Wandell M., Lofton-Day C. et al. Prospective clinical validation of an assay for methylated *SEPT9* DNA in human plasma as a colorectal cancer screening tool in average risk men and women 50 years and older // *Digestive Disease Week*. 2010. P. 1-5. LB-711d.
- [19] Burtsev D.V., Kit O.I., Maksimov A.Iu. Effektivnost' i optimizatsiia epigeneticheskikh metodov pri molekuliarnom skrininge raka tolstoi kishki // *Prakticheskaja meditsina*. 2012. N 61. P. 90-94.

КОЛОРЕКТАЛЬДЫ ІСІКТІҢ ДАМУЫНА *P16* ЖӘНЕ *SEPT9* ГЕНДЕРІ МЕТИЛЬДЕНУІНІҢ ӘСЕРІН ТАЛДАУ

А. В. Перфильева¹, С. Е. Әбдікерім¹, К. Б. Жантаева¹, О. А. Иксан¹, О. Б. Мұхамбетов¹,
С. А. Касимуратова¹, Е. Б. Кузовлева¹, Қ. С. Утегенова¹, Г. С. Жүнісова¹, Э. М. Хусаинова¹,
Г. А. Афонин², Б. О. Бекманов¹, Л. Б. Жансүгірова¹

¹ҚР БҒМ ҒК «Жалпы генетика және цитология институты», Алматы, Қазақстан,
²С. Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан

Тірек сөздер: колоректальды ісік, ДНҚ метильдену, эпигенетика.

Аннотация. Қалыпты жағдайда және колоректальды ісіктің дамуы кезінде клетка циклінің реттелуі мен клетка пролиферациясына жауапты *p16* және *SEPT9* гендеріндегі промоторлық бөліктерінің метильденуіне молекулалы-генетикалық талдау жүргізілді. Колоректальды ісікті диагностикалау үшін алынған ішек ұлпасындағы *p16* генінің және ішек ұлпасы мен перифериялық қаннан алынған *SEPT9* генінің промоторлық бөліктеріндегі метильденуге жүргізілген тестілеудің практикалық потенциалы анықталды.

Поступила 04.05.2016 г.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 315 (2016), 138 – 143

THE COMPARATIVE MORPHOLOGY OF SKINS STRUCTURE OF ASTRAKHAN LAMBS

M. K. Tuyekbasov¹, A. E. Kydyrbayeva², G. J. Turmetova³

¹Research institute south-west livestock and crop production, Shymkent, Kazakhstan,

²Regional social innovation university, Shymkent, Kazakhstan,

³Yassawi International Kazakh-Turkish University, Turkestan, Kazakhstan.

E-mail: elemesovna.1970@mail.ru, gulmir_70@mail.ru

Keywords: skin, gистогенетика, selection, histomorphological analysis, hematoxylin, microscopic analysis, variational statistics, type of skin, the epidermis, pilar layer, reticular layer of the skin thickness, Karakul lamb.

Abstract. In an article on the studied histological features of individual layers and the thickness of the skin karakul lambs from colored and astrakhan sheep types. It was revealed that most have thick skins of astrakhan lamb, which is especially expressed their pilar and reticular layers. The allocation for skins type highest rates were observed in Caucasian lambs, compared to lowland types. In conclusion, each coloring karakul pelts is different depending on the type lambs.

ӘОЖ 636.082

ҚАРАКӨЛ ҚОЗЫСЫ ТЕРІ ҚҰРЫЛЫМЫНЫҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ МОРФОЛОГИЯСЫ

M. K. Туекбасов¹, A. E. Қыдырбаева², Г. Ж. Турметова³

¹Оңтүстік-Батыс мал шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы, ҒЗИ, Шымкент, Қазақстан,

²Аймақтық әлеуметтік инновациялық университеті, Шымкент, Қазақстан,

³Қ. А. Ясауи атындағы Халықаралық қазақ-түрік университеті, Түркістан, Қазақстан

Түйін сөздер: тері жамылғысы, гистогенетика, селекция, гистоморфологиялық талдау, гематоксилин, микроскопиялық талдау, вариациялық статистика, елтірі типі, эпидермис, пилярлы қабат, ретикулярлы қабат, тері қалыңдығы, қаракөл қозысы.

Аннотация. Мақалада әртүрлі түсті және елтірілік типті қаракөл қойы қозыларының терісінің қалыңдығы мен оның жекелеген қабаттарының гистологиялық зерттеулері салыстырмалы зерттелген. Алынған мәліметтерден қаракөл қозыларының терілері анағұрлым қалыңдау болып, бұл айырмашылықтар әсіресе пилярлық және ретикулярлық қабаттарда байқалған. Қозыларды елтірілік типтері бойынша сараптағанда, тері қалыңдығының неғұрлым жоғары көрсеткіштері кавказдық елтірілік типті қозыларда болса, төменгі мәні жазықгүл елтірілік типтілерде алынған. Қорыта келе, қаракөл қозыларының әрбір түсі елтірілік типіне байланысты өзіндік ерекшеліктері қарастырылған.

Ауылшаруашылығы жануарларының тері жамылғысы физиологиялық жағынан сияқты, функционалдық міндеті жағынан да әрқашан да ғалымдардың назарын аудартады. Тері жамылғысы бұл көпкомпонентті жүйе, зерттеулердің көпшілігі фрагменттік сипатта болуы салдарынан кешенді морфологиялық және морфометриялық зерттеу жүргізу өте қиын. Қаракөл шаруашылығы қой шаруашылығының айрықша саласы, мұнда мамық жүнді аң шаруашылығының гистогенетикасы басым болады, мұнда өнімнің селекциясы және өндірісі кезінде түс басты рөл атқарады.

Бұдан басқа, қаракөл шаруашылығында қаракөлдiң тауарлық құндылығын анықтау кезiнде елтірі типінің (бұйралану пішіні мен өлшемі) маңызы үлкен. Жоғарыда баяндалғанды ескере отырып, қаракөл қойы қозысының елтірісінің гистоморфологиялық ерекшеліктерін зерделеу кезiнде бiз қозылардың елтірі типіне және түсіне айрықша назар аудардық. Осы бөлімшенің мақсатқа сәйкестігі, бұл терінің гистоморфологиялық құрылымының түс пен қозылардың елтірі типінің арасындағы өзара байланыс пен өзара шарттылық дәрежесін анықтау және заңдылықтарды айқындау, бiздiң пікірімізше, бұл келешекте түсті қаракөл шаруашылығындағы селекциялық процестердi жетілдіруге мүмкіндік береді.

Зерттеу әдістемесі. Зерттеулер үшін бастапқы материал «Оңтүстік-Қазақстан мал шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС селекциялық-генетикалық орталығының қаракөл қойы қозылары болды. Терінің гистопрепараттарын дайындау және тері-қылшықты жамылғы құрылымын зерттеу Н. А. Демидовтың және т.б. [1] әдістемесі және қаракөл шаруашылығы институтының әдістемесі бойынша, ҚазҚШҒЗИ гистоморфологиясының түрлендірілген зертханасымен [2] жүргізілді. Гистокесінділерді бояу келесідей жүргізілді: микротом пышағынан алынған кесінділер Судан III бояуына салынды, бұл бояу май бездерінің май қосындыларын сарғылт түске бояйды, бұның біріншілік және екіншілік фолликулдарды анықтау кезінде үлкен көмегі бар. Судан бояуынан алынған кесінділер алдымен 50 градустық спиртте, одан кейін дистилденген суда шайылды және жетілген және ұрықтанған фолликулдардың жасушаларында ядролық заттарды анықтау үшін гематоксилин Кораччи бояуының ерітіндісіне көшірілді. Гематоксиннен кесінділер дистилденген суға, одан соң заттық әйнекке орналастырылды. Созылған гистокесіндіге желатин + глицерин қоспасының үлкен тамшысын тамызылды және жамылғы әйнегімен абайлап жабылды. Микроскопиялық талдау МБИ-3 микроскопының көмегімен келесі көрсеткіштер бойынша жасалды: терінің бетіне қатысты тік көріністе дайындалған препараттарда: эпидермис биіктігі 7x40 ұлғайтылған кезде анықталды. Терінің пилярлық және ретикулярлық қабаттарының қалыңдығы 7x3,5 ұлғайтылып өлшенді. Нағыз терінің байланыстырушы тіндік талшықтарының құрылымы (7x40). Микроскоптаудың экспозициялық интервалдары зерттелуші құрылымдардың шамаларының әркелкілігімен түсіндіріледі. Әрбір гистопрепараттағы өлшеу саны 20. Эксперименталдық деректер М. К. Туекбасовтың, Б. Турумбетовтің [2] әдістемелік ұсынымы бойынша МК-61 микрокалькуляторды пайдаланумен, вариациялық статистика әдісімен биометриялық жолмен өңделді [3, 4].

Зерттеу нәтижелері. Қаракөл қойы қозыларының терісінің гистоморфоқұрылымының және оның қабаттарының ерекшеліктерін неғұрлым объективті бейнелеу мақсатында бiз әрбір елтірі типі бойынша осы зерттеулердi жеке кестелер түрінде ұсындық. Қаракөл қойы қозыларының терісінің қалыңдығын гистологиялық зерттеулер түсі мен елтірі типіне байланысты тері параметрлерінің түрлі шамалары болатынын көрсетті. Мысалы, жакеттік елтірі типті қаратүсті қозылардың терісінің жалпы қалыңдығы 1810,3 мкм, сұртүсті – 2002,2 мкм, ақ түсті – 2469,4 мкм, қоңыр түсті – 2102,9 мкм, гулигаз – 2140,4 мкм, қазақы сұр – 2305,5 мкм, бұхар сұры – 1863,9 мкм, сұрхандария сұр – 2027,9 мкм, қарақалпақ сұр типті– 2118,7 мкм (1-кесте).

1-кесте – Жакеттік елтірі типті қозылардың тері қабаттарының параметрлері

| Қозы түсі | Эпидермис | Пилярлы қабат | Ретикулярлы қабат | Терінің жалпы қалыңдығы |
|-------------------|-----------|---------------|-------------------|-------------------------|
| Қара | 24,5±0,27 | 1345,1±31,6 | 470,7±16,8 | 1810,3 |
| Сұр | 23,1±0,18 | 1386,5±41,3 | 592,8±36,7 | 2002,2 |
| Ақ | 23,4±0,23 | 1724,5±47,2 | 721,5±26,5 | 2469,4 |
| Қоңыр | 23,7±0,34 | 1471,7 ±0,51 | 607,5±31,7 | 2102,9 |
| Гулигаз (алқызыл) | 24,1±0,18 | 1503,5±0,62 | 612,8±26,3 | 2140,4 |
| Қазақы сұры | 24,4±0,11 | 1529,7±0,76 | 751,4±21,5 | 2305,5 |
| Бұхар сұры | 23,4±0,26 | 1345,2±0,39 | 495,3±25,9 | 1863,9 |
| Сурхандария сұры | 24,7±0,34 | 1438,5±0,42 | 564,7±31,4 | 2027,9 |
| Қарақалпақ сұры | 25,9±0,23 | 1501,4 ±46,7 | 591,4±39,6 | 21187 |

Бұл ауытқулар терінің жекелеген қабаттарының эпидермистің, пилярлық және ретикулярлық қабатының түрлі шамаларымен алдын ала анықталған. Жакеттік елтірі типті қозылардың арасында эпидермистің ең үлкен шамасы қарақалпақ сұр – 25,9 мкм, бұдан әрі сұрхандария сұр типті қозыларда (24,7 мкм), қара түсті (24,5 мкм), қазақы сұр (24,4 мкм), гулигаз типті (24,1 мкм) қозыларда болады. Сұр, ақ, қоңыр түсті және бұхар сұр типті қозыларда эпидермис қалыңдығы бірдей (23,1-23,7 мкм). Пилярлық қабат шамаларында елеулі айырмашылықтар байқалады, мұнда пилярлық қабаттың ең аз шамасы қара түсті (1345,1 мкм), бұхар сұры (1345,2) және сұр түсті (1386,5 мкм) қозыларда. Ақ түсті қозыларға пилярлық қабаттың қалыңдаған пішіні тән (1724,5 мкм), қара түсті қозылармен салыстырғанда пилярлық қабаттың біршама қалыңдау пішіні $P < 0,01$ кезінде қарақалпақ сұр (1501,4 мкм), гулигаз (1503,5 мкм) және қазақ сұр типті (1529,7 мкм) қозыларда болады.

Жакеттік елтірі типті қозылардың ретикулярлық қабатының қалыңдығы сондай-ақ түсіне қарай айтарлықтай өзгереді. Мысалы, ретикулярлық қабаттың ең үлкен қалыңдығы қазақ сұр типті (751,4 мкм) және ақ түсті (721,5 мкм) қозыларда болады, қоңыр түсті және гулигаз типті қозылармен салыстырғанда айырмашылықтар статистикалық тұрғыда айқын ($P < 0,01$), басқа түсті қозылармен салыстырғанда айырмашылықтар статистикалық тұрғыда жоғары дәрежеде айқын ($P < 0,001$).

Қабырға елтірі типті қозылардың терісінің қалыңдығы жакеттік елтірі типті қозылармен салыстырғанда біршама жұқа және түсіне қарай өз ерекшеліктері болады (2-кесте).

2-кесте – Қабырға елтірі типті қозылардың тері қабаттарының параметрлері

| Қозы түсі | Эпидермис | Пилярлық қабат | Ретикулярлық қабат | Терінің жалпы қалыңдығы |
|-------------------|-----------|----------------|--------------------|-------------------------|
| Қара | 22,7±0,32 | 1224,2±24,5 | 411,3±17,5 | 1658,2 |
| Сұр | 23,3±0,27 | 1329,5±31,4 | 543,2±31,8 | 1896,0 |
| Ақ | 25,7±0,19 | 1680,5±56,4 | 701,8±36,3 | 2408,0 |
| Қоңыр | 23,4±0,34 | 1381,5±41,3 | 626,5±29,2 | 2031,4 |
| Гулигаз (алқызыл) | 26,2±0,41 | 1465,2±56,3 | 665,2±47,1 | 2156,6 |
| Қазақы сұры | 27,3±0,26 | 1598,4±22,8 | 617,1±17,4 | 2242,8 |
| Бұхар сұры | 24,5±0,14 | 1279,5±41,3 | 536,2±21,9 | 1835,2 |
| Сурхандария сұры | 25,9±0,26 | 1382,5±31,9 | 597,4±36,5 | 2005,8 |
| Қарақалпақ сұры | 25,7±0,21 | 1403,6±46,7 | 614,5±52,3 | 2043,8 |

Басқа түсті қозылармен салыстырғанда ($P < 0,001$) қазақы сұр түсті қозылардың эпидермисінің қалыңдығы мейлінше үлкен болады (27,3 мкм). Қабырға елтірі типті қозылардағы эпидермистің ең аз қалыңдығы қара түсті (22,7 мкм), сұр түсті (23,3 мкм) және қоңыр түсті (23,4 мкм) қозылардың арасында анықталған. Ақ түсті, гулигаз және сұр тобының қозыларының эпидермисінің қалыңдығы 24,5–26,2 мкм шегінде ауытқиды. Пилярлық қабаттың қалыңдығында біршама айырмашылықтар байқалады, түстер қимасында олар айтарлықтай. Мысалы, ақ түсті (1680,5 мкм) және қазақ сұр (1598,4 мкм) типінің қозылары пилярлық қабаттың қалыңдаған пішінімен сипатталады, ал өз кезегінде қара түсті (1224,2 мкм) және бұхар сұр түсті (1279,5 мкм) қозыларда ең жұқа пилярлық қабат болады.

Пилярлық қабаттың біршама орташаландырылған пішіні сұр түсті, қоңыр түсті, сурхандария сұр, қарақалпақ сұр және гулигаз түсті қозыларда болады, олардың параметрлері 1329,5–1465,2 мкм шегінде болады. Қозылардың түсіне байланысты елеулі айырмашылықтар ретикулярлық қабаттың қалыңдығында да байқалады. Ретикулярлық қабаттың ең аз қалыңдығы қара түсті қозыларда анықталды, бұдан әрі біршама қалыңдаған ретикулярлық қабат бұхар сұр (536,2 мкм), сұр түсті (543,2 мкм) және сурхандария сұр типті (597,4 мкм) қозыларда байқалады. Ретикулярлық қабаттың қалыңдау шамасына қарай келесі топқа қазақ сұр (617,1 мкм), қоңыр түсті (626,5 мкм) және гулигаз типті (665,2 мкм) қозылар кіреді, ал ретикулярлық қабаттың ең жоғары шамалары ақ түсті қозыларда анықталды (701,8 мкм). Жазық елтірі типті қозылардың терісінің жекелеген қабаттары мен жалпы қалыңдығын зерттеу (3-кесте), эпидермис қалыңдығының 23,5–26,3 мкм шегінде ауытқитынын көрсетті, бұл кезде қара түсті (24,3 мкм), сұр түсті (24,5 мкм) бұхар сұр (24,7 мкм),

қоңыр түсті (24,8 мкм) қозылармен салыстырғанда эпидермистің ең үлкен қалыңдығы қазақ сұр (26,3 мкм), қарақалпақ сұр (25,9 мкм) және сұрхандария сұр (25,6 мкм) типті қозыларда болады, ал эпидермистің ең аз шамасы ақ түсті қозыларда болады ($P < 0,01$).

Жазық елтірі типті қозылардың пилярлық қабатының қалыңдығында да түсіне байланысты белгілі бір айырмашылықтар байқалады. Мысалы, басқа түсті қозылармен салыстырғанда ақ түсті қозылардың пилярлық қабатының қалыңдығы ең үлкен болады ($P < 0,001$). Сұр қозылардың арасында пилярлық қабаттың ең үлкен шамасы қазақ сұр типінің қозыларында болады ($P < 0,01$), қарақалпақ сұр және сұрхандария сұр типті қозылардың пилярлық қабатының шамалары 1364,9–1317,4 мкм шегінде болады ($P < 0,1$), ал ең жұқа пилярлық қабат бұхар сұр типті қозыларда болады ($P < 0,01$).

3-кесте – Жазық елтірі типті қозылардың тері қабаттарының параметрлері

| Қозы түсі | Эпидермис | Пилярлық қабат | Ретикулярлық қабат | Терінің жалпы қалыңдығы |
|-------------------|-----------|----------------|--------------------|-------------------------|
| Қара | 24,3±0,41 | 1147,8±29,4 | 387,6±16,5 | 1559,7 |
| Сұр | 24,5±0,19 | 1242,5±36,2 | 419,2±15,7 | 1686,2 |
| Ақ | 23,5±0,12 | 1620,4±41,7 | 670,4±32,9 | 2314,3 |
| Қоңыр | 24,8±0,17 | 1346,5±52,6 | 554,8±33,7 | 1926,1 |
| Гулигаз (алқызыл) | 25,2±0,26 | 1394,4±43,2 | 582,3±40,2 | 2001,9 |
| Қазақы сұры | 26,3±0,73 | 1432,9±14,7 | 625,3±12,5 | 2084,5 |
| Бұхар сұры | 24,7±0,42 | 1245,3±26,5 | 517,6±26,7 | 1787,6 |
| Сурхандария сұры | 25,6±0,28 | 1317,4±31,2 | 541,4±51,4 | 1884,4 |
| Қарақалпақ сұры | 25,9±0,35 | 1364,9±42,7 | 596,5±42,3 | 1987,3 |

Қоңыр түсті (1346,5 мкм) және гулигаз типті (1394,4 мкм) қозылардың пилярлық қабатының қалыңдығы бірдей дерлік ($P > 0,1$). Өз кезегінде, қара түсті (1147,8 мкм) және сұр түсті (1242,5 мкм) қозыларда пилярлық қабаттың ең аз шамалары болады ($P < 0,001$).

Ұқсас үрдіс ретикулярлық қабаттың құрылымында да байқалады, тек мұндағы айырмашылық, пилярлық қабатпен салыстырғанда ретикулярлық қабаттың шамалары аз болады ($P < 0,001$). Ретикулярлық қабаттың ең үлкен қалыңдығы ақ түсті (670,4 мкм) және қазақ сұр типті (625 мкм) қозыларда анықталды, қоңыр түсті, гулигаз, бұхарсұр, сұрхандария сұр және қарақалпақ сұр типті қозылардың ретикулярлық қабатының қалыңдығы 517,6–596,5 мкм құрайды, ал ретикулярлық қабаттың ең аз шамалары ($P < 0,001$) кезінде қара түсті (387,6 мкм) және сұр түсті (419,2 мкм) қозыларда. Терінің жекелеген қабаттарының қалыңдығында белгіленген айырмашылықтар терінің жалпы қалыңдығында білінді. Мысалы, осы көрсеткіш бойынша басқа түсті қозылардың терісінің қалыңдығымен салыстырғанда ақ түсті қозылардың терісінің жалпы қалыңдығының шамасы ең үлкен болады (2314,3 мкм, $P < 0,001$). Гулигаз және қазақ сұр типінің қозыларының терісінің қалыңдығы 2001,9–2084,5 мкм шегінде болады, бұхарсұр, сұрхандария сұр және қарақалпақ сұр типті қозыларда бұл көрсеткіш 1787,6–1987,3 мкм құрайды, ал ең төмен көрсеткіштер (1555,7–1686,2 мкм) қара түсті қозыларда.

Кавказ типті қозылардың терісінің жекелеген қабаттары мен жалпы қалыңдығын зерттеу (4-кесте), кавказ елтірі типті қозылар терінің жалпы қалыңдығы бойынша жакеттік, қабырға және жазық елтірі типті қозылардан статистикалық тұрғыдағы айқын шамаға асып түсетінін көрсетті ($P < 0,01$). Эпидермиялық қабаттың өз ерекшеліктері болады, мысалы қазақы сұр типінің қозыларының эпидермисінің ең үлкен шамалары (28,1 мкм), ал сұр түсті (23,7 мкм), ақ түсті (24,3 мкм) және қарақалпақ сұр (24,8 мкм) қозыларының эпидермисінің ең аз шамалары болады ($P < 0,01$). Пилярлық қабатта ең үлкен шамалар ақ түсті қозыларда (1866 мкм) белгіленді, олар бұл көрсеткіш бойынша барлық басқа қозылардан статистикалық тұрғыдағы айқын шамаға асып түседі ($P < 0,001$). Өз кезегінде қазақ сұр типінің қозыларында басқа түсті қозылармен салыстырғанда пилярлық қабаттың неғұрлым жоғары параметрлері бар (ақ түсті қозылардан басқа) ($P < 0,001$). Қара түсті, қоңыр түсті, гулигаз, бұхар сұр және сұрхандария сұр қозылардың пилярлық қабатының қалыңдығы бірдей дерлік және 1426,4–1486,5 мкм шегінде ($P > 0,1$).

4-кесте – Кавказ елтірі типті қозылардың тері қабаттарының параметрлері

| Қозы түсі | Эпидермис | Пилярлы қабат | Ретикулярлы қабат | Терінің жалпы қалыңдығы |
|-------------------|-----------|---------------|-------------------|-------------------------|
| Қара | 26,5±0,39 | 1453,4±21,2 | 520,7±19,3 | 2000,6 |
| Сұр | 23,7±0,18 | 1512,5±31,7 | 574,6±21,0 | 2110,8 |
| Ақ | 24,3±0,14 | 1866,5±41,5 | 746,2±41,1 | 2637,0 |
| Қоңыр | 25,1±0,15 | 1431,5±46,2 | 605,6±21,4 | 2062,2 |
| Гулигаз (алқызыл) | 26,7±0,24 | 1426,4±51,3 | 614,5±18,3 | 2067,6 |
| Қазақы сұры | 28,1±0,13 | 1647,5±62,4 | 790,9±39,5 | 2466,5 |
| Бұхар сұры | 25,4±0,19 | 1465,8±31,4 | 579,2±26,4 | 2070,4 |
| Сурхандария сұры | 26,7±0,21 | 1486,5±42,1 | 660,2±39,8 | 2173,4 |
| Қарақалпақ сұры | 24,8±0,13 | 1511,4±0,59 | 696,7±31,9 | 2232,9 |

Ретикулярлық қабатта сондай-ақ өзіне тән ерекшеліктері бар, қазақ сұр типінің (790,9) және ақ түсті (746,2) қозылардың ретикулярлық қабатының ең үлкен шамалары болады ($P < 0,001$), сурхандария сұр (660,2 мкм) және қарақалпақ сұр қозыларының ретикулярлық қабатының параметрлері 660,2–696,7 мкм құрайды ($P < 0,1$), ал ретикулярлық қабаттың ең кіші көрсеткіштері қара түсті (520,7 мкм), сұр түсті (574,6 мкм) және бұхар сұр (579,2 мкм) қозыларда.

Қорытынды. Сонымен, қаракөл қойы қозыларының терісінің қалыңдығын және оның жекелеген қабаттарын гистологиялық зерттеулерді салыстырмалы талдау қара түсті, сұр түсті, қоңыр түсті, гулигаз, бұхар сұр, сурхандария сұр және қарақалпақ сұр типті қозылармен салыстырғанда ақ түсті және қазақ сұр тұқымшiлiк типiнiң қозыларының неғұрлым қалыңдау тері жамылғысы болатынын көрсетті, бұл айырмашылықтар әсіресе пилярлық және ретикулярлық қабаттарда байқалады. Сондай-ақ елтірі типтері мен тері қалыңдығы арасында да белгілі бір тәуелділік байқалады, бұл айырмашылықтар барлық жекелеген қабаттарда жақсы байқалады. Неғұрлым анық айырмашылықтар пилярлық және ретикулярлық қабаттарда, байқалады, тері қалыңдығының неғұрлым жоғары шамалары кавказ елтірі типті қозыларында, бұдан әрі жакеттік елтірі типінің, қабырға елтірі типінің қозыларында және тері қалыңдығының ең аз шамалары жазық елтірі типінің қозыларында, демек, тері қабаттарының дамуы ғана емес, сондай-ақ байланыстырушы талшықтардың орналасуы мен тығыздығы маңызды рөл атқарады. Жалпы әрбір түс үшін, қозылардың елтірі типіне қарай, өзіндік ерекшеліктер тән.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Диомидова Н.А., Панфилова Е.П., Суслина Е.С. Методика исследования волосяных фолликулов. – М., 1960. – 10 с.
- [2] Ерофеев В.С., Шамекенова Р.Д., Туекбасов М.К. Методика дифференцированного определения густоты шерстяных волокон у каракульских ягнят. – Шымкент, 1992. – 8 с.
- [3] Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М., 1969. – 255 с.
- [4] Меркурьева Е.К., Шангин-Березовский Г.Н. Генетика с основами биометрий. – М., 1983. – 400 с.
- [5] Туекбасов М.К., Турумбетов Б. Биометрическая обработка данных научных экспериментов в животноводстве. – Шымкент, 1991. – 20 с.

REFERENCES

- [1] Diomidova N.A., Panfilova E.P., Suslina E.S. Metodika issledovaniya volosyanyh follikulov. M., 1960. 10 p.
- [2] Erofeev V.S., Shamekenova R.D., Tuyekbasov M.K. Metodika differencirovannogo opredeleniya gustoty sherstyanyh volokon u karakulskih yagnyat. Shymkent, 1992. 8 p.
- [3] Plokhinskiy N.A. Rukovodstvo po biometrii dlya zootehtikov. M., 1969. 255 p.
- [4] Merkuryeva E.K., Shangin-Berezovkiy G.N. Genetika s osnovami biometrii. M., 1983. 400 p.
- [5] Tuyekbasov M.K., Turumbetov B. Biometricheskaya obrabotka dannyh nauchnyh eksperimentov v zhivotnovodstvo. Shymkent, 1991. 20 p.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ СТРУКТУРЫ ШКУРОК КАРАКУЛЕВЫХ ЯГНЯТ**М. К. Тускбасов¹, А. Е. Кыдырбаева², Г. Ж. Турметова³**¹НИИ Южно-Западного животноводство и растениеводство, Шымкент, Казахстан,²Региональный социальный инновационный университет, Шымкент, Казахстан,³Международный казахско-турецкий университет им. Х. А. Ясави, Туркестан, Казахстан

Ключевые слова: кожные покровы, гистогенетика, селекция, гистоморфологический анализ, гематоксилин, микроскопический анализ, вариационная статистика, тип шкурки, эпидермис, пилярный слой, ретикулярный слой, толщина кожи, ягненок каракульский.

Аннотация. В статье сравнительно исследованы гистологические особенности отдельно взятых слоев и толщина кожного покрова каракулевых шкурки ягнят от разноцветных и каракулевых типов овец. Выявлено, что наибольшей толщиной обладают шкурки каракулевых ягнят, что особенно выражено на их пилярных и ретикулярных слоях. При распределении по типу шкурки наиболее высокие показатели наблюдались у кавказских ягнят, по сравнению с равнинными типами. Вывод, каждая расцветка каракулевых шкурки имеет свои особенности в зависимости от типа ягнят.

Поступила 04.05.2016 г.

К. Н. Жайлыбайдың «Күріш» тақырыбындағы монографиясына

П І К І Р

Монографияның бірінші тарауында күріш егіншілігінің пайда болуы, дамуы және Орталық Азия мен Қазақстанға таралуы мәселелері қарастырылған. Ғалымдардың тарихи, лингвистикалық, археологиялық және фольклорлық мәліметтерді жинақтап тұжырымдау нәтижесіне қарағанда, күріш егіншілігі 20 мың жыл және оданда бұрын Үндіқытайда пайда болып, егіншілік қалыптасқан. Одан Қытайға, Маньчжурияға, Корея мен Жапонияға таралған. Орталық Азияға күріш б.э.б. 3–2 ғасырда «Жібек жолы» арқылы келген. Ал, Қазақстандағы негізгі күріш өсіруші аймақ – Сыр өңіріне 1895–1896 жылдардан бастап егіле бастады. 1975-1990 жылдар аралығында Арал өңірінде инженерлі дайындалған суармалы жерлер 217 мың гектар көлемінде игеріліп, жыл сайынғы күріш егісі көлемі 95–110 мың гектарға жетті. Бұл халықтың әлеуметтік жағдайын жақсартып, көптеген күріш совхоздары құрылды.

Бірақ, Арал теңізінің тартылуына, Сырдария суының мөлшері азайып, жер асты суының минерализациялануына, суармалы жерлердің қайталама тұздануының күшеюіне байланысты туындаған экологиялық дағдарысты жағдай салдарынан бұл өңір тек геофизикалық және метеорологиялық жағынан өзгеріп отырған жоқ, сонымен қатар биологиялық және экологиялық тепе-теңдікте бұзылып барады. Мысалы, Қызылорда облысындағы 217,6 мың гектар суармалы жерлердің 80–85%-ы орташа және жоғары деңгейде тұзданып сортаңданған, ал 28,3 мың гектары күшті деңгейде тұзданғандықтан игерілмей, айналымнан шығып қалып отыр. Бұл дақылды өсіріп, күріш астығын алу экономикалық тұрғыдан тиімді болғанымен, аталған жағдайлар әсерінен күріш дақылдың егіс көлемін азайтуға шаруашылықтар мәжбүр болып отыр. Сондықтан, күріш егісі өнімділігін арттыру бүгінгі таңдағы ең өзекті проблеманың бірі.

Бұл проблеманы шешу үшін мол дән өнімін беретін күріш сорттарының жоғары өнімді агроценоздарының фотосинтетикалық әрекетін (қызметін), морфофизиологиялық, морфоанатомиялық ерекшеліктерін терең зерттеп, мол өнімді болашақ сорттар моделін тұжырымдау керек. Бұл күріш егіншілігі мен селекциядағы проблемаларды, жоғары өнімді, экологиялық толерантты (шыдамды) сорттардың морфофизиологиялық моделін жасауда, тыңайтқыштарды қолдануды оптимизациялап қолайландыру шараларын шешуде үлкен мүмкіндіктер туғызады.

Профессор К. Н.Жайлыбайдың «Күріш» атты монографиясы осындай күрделі мәселелерді анықтап шешуде елеулі үлес қосқан күрделі еңбек.

Арал өңірі жағдайында орта бойлы Кубань 3, Маржан, Арал 202, Ару, Түгіскен 1 сорттары өнімінің артуының «бірінші эффекті» азот тыңайтқышының N120P90-120 кг/га дозасында берілгенде байқалды. Ең жоғары дән өнімінің артуының «екінші эффекті» азот тыңайтқышы N180P120 кг/га мөлшерінде енгізілгенде алынды. Ал, тыңайтқыштар дозасын одан әрі көбейту (N240P180 кг/га) жалпы биомасса өнімін (Өбиол., ц/га) арттырғанымен, фотосинтездің таза өнімділігі (Фт.ө., г/м²тәулік) көрсеткішін төмендетті, бірақ, дән өнімін (Өшар, ц/га) арттырған жоқ, керісінше төмендетті. Күріш егісіне осындай көп мөлшерде тыңайтқыштар енгізу топырақты, су қоймаларын және табиғи фитоценоздарды ластайды, яғни экономикалық және экологиялық тұрғыдан тиімсіз.

Күріш егісіне тыңайтқыштар оптимальды дозада (N180P120 кг/га) және орташа мөлшерде (N120P120 кг/га) енгізілген жағдайда күріш сорттарының вегетативті мүшелерінің анатомиялық құрылысы зерттеліп, мемлекеттік тілде алғаш сипатталды.

Жоғары өнімді, өзгерген экологиялық жағдайларға төзімді (толерантты) болашақ күріш сорттарының морфофизиологиялық моделі, селекциялық үлгілерді бағалап сұрыптауға арналған физиологиялық әдістемелер тұжырымдалып селекциялық практикаға ұсынылды.

Автордың зерттеу нәтижелері бойынша, Арал өңірі жағдайында күріш егісіне берілетін минеральды, әсіресе азот тыңайтқышының дозасы мен енгізу әдістерін анықтап белгілегенде сорттарды биіктігі, архитектурасы және өсімдік типтері бойынша топтастыру керек. Генотипі және шығу тегі әртүрлі болғанымен, биіктігі, архитектурасы бірдей сорттар фотосинтетикалық және дән өнімділігі бойынша бірегей құрылымды агроценоз қалыптастырады. Сондықтан, минеральды тыңайтқыштар дозасы, енгізу мерзімі және тәсілдері, суару режимі және басқада агротехникалық шаралар біртекті, яғни технологиялық деңгейі, шаралары бойынша ұқсас болады. Атап айтқанда:

а) күріштің жіңішке, тік жапырақты Кубань 3, Краснодарский 424, Ару сорттарының жоғары өнімді егістігі (агроценозы) тұқымнан өніп шыққанда өскіндер саны 320-430 дана/м², ору алдында 250-350 дана/м² өсімдік болғанда, оптимальды масақты сабақтар саны 550-650 дана/м², немесе гектарына 5,5-6,5 млн. масақ болғанда қалыптасады. Осындай жоғары өнімді егістікке азот тыңайтқышының (N180P120 кг/га) 25-33%-ын себу алдында, 67-75%-ын күріш 6-7 және 8-9 жапырақты кезеңде екі рет үстеп қоректендіру ретінде берілгенде алынады;

б) күріштің ірі жапырақты (Маржан, Арал 202, Түгіскен 1) сорттарының жоғары өнімді агроценозы тұқымнан өніп шыққанда өскіндер саны 250-350 дана/м², ору алдында 220-300 дана/м² өсімдік, оптимальды масақты сабақтар саны 520-580 дана/м² болғанда қалыптасты. Осындай жоғары өнімді егістікке азот тыңайтқышының (N180P120 кг/га) 60-70%-ын себу алдында, 30-40%-ын 6-7 жапырақты кезеңде (органогенездің 3-ші этапы фазасының басында) бір рет үстеп қоректендіру ретінде берілгенде алынды.

Осыған сәйкес, профессор К. Н. Жайлыбайдың «Күріш» атты монографиясы биология ғылымына, күріш егіншілігіне елеулі үлес қосқан күрделі ғылыми еңбек.

*Саданов А.Қ., ҚР БЖҒМ «Микробиология және вирусология институтының» Бас директоры,
Қазақстан Республикасының ғылым мен техника саласы
бойынша мемлекеттік сыйлықтың лауреаты,
«Қазақстанның еңбек сіңірген қайраткері»,
«Құрмет» орденінің иегері,
биология ғылымдарының докторы, профессор, академик*

Юбилейные даты

**Биология ғылымдарының докторы, профессор,
Россия Жаратылыстану Академиясының корреспондент мүшесі
ЖАЙЛЫБАЙ КЕЛІС НҰРМАШҰЛЫ – 80 жаста**



Биология ғылымдарының докторы (1998 ж.), профессор (2002 ж.), Россия Жаратылыстану Академиясының корреспондент-мүшесі (2016 ж.), Европа Жаратылыстану Академиясының толық мүшесі (Academy of Natural History. Certificate № S 0149. This Certificate is proudly presented to *Jailibay Kelis Nurmashuli International Academy of Natural History Full Member* (2016).

К. Н. Жайлыбай 1936 жылы 1 наурыз күні Қызылорда облысы, Шиелі ауданы, «Еңбекші» аулында дүниеге келген.

1961 жылы ол Қазақ ұлттық университетінің (бұрынғы КазМУ) биология-топырақтану факультетін «*өсімдіктер физиологиясы*» мамандығы бойынша бітірген. 1961–1969 жылдары Қазақ егіншілік ғылыми-зерттеу (ҒЗ) институтының өсімдіктер физиологиясы лабораториясының ғылыми қызметкері.

1969–1998 жылдары ол Ы. Жақаев атындағы Күріш шаруашылығы ҒЗ институтының физиология лабораториясының аға ғылыми қызметкері, лаборатория меңгерушісі. 1998–2004 жылдары осы институттың «Селекция» және «Технология» бөлімінің аға ғылыми қызметкері. 1997 жылы «Фотосинтетические и морфофизиологические основы продуктивности риса» тақырыбында докторлық диссертация қорғады.

1992–2004 жылдары Қорқыт Ата атындағы Қызылорда мемлекеттік университетінің доценті, профессоры.

2004 жылдан осы кезге дейін Қазақ мемлекеттік қыздар педагогика университетінің «Биология», «Экология» кафедрасының профессоры, 2015 жылдан Орталық Азия университетінің профессоры. Педагогикалық жұмыста жоғары білімді маман – лектор екенін көрсетті, дәрістерін терең ғылыми-теориялық деңгейде қазақ және орыс тілінде жүргізеді.

К. Н. Жайлыбай белгілі күрішші ғалым, өсімдіктер физиологиясы, агрономия, ботаника, экология саласының маманы. Арал өңіріндегі негізгі астық дақылдары: күріш, бидай, арпа, сұлы дақылдарының фотосинтезін, морфофизиологиясын, анатомиясын терең зерттеу нәтижесінде:

а) өсімдіктердің фотосинтетикалық өнімділігі теориясын күріш мысалында одан әрі дамытты және ең жоғары әрі сапалы дән өнімінің қалыптасу теориясын тұжырымдады;

б) ең жоғары дән өнімін беретін күріш, бидай, арпа, сұлы, түйежоңышқа агроценоздарының (егістіктерінің) параметрлерін анықтап, моделін жасап шығарды;

в) күріштің жоғары өнімді сорттық үлгілерін бағалап сұрыптайтын жаңа морфофизиологиялық әдістемелерін жасап шығарды және олар Қазақстан Республикасы патенттерімен қорғалған;

г) тұзданған жерлерде күріш өсірудің сорттық жаңа жетілдірілген технологиясын тұжырымдап, өндіріске енгізді. Бұл жаңа технология Қазақстан Республикасы патентімен (№ 9029) қорғалған;

д) Арал өңіріндегі суармалы егіншілік жағдайында ерте дәнді дақылдарды (бидай, арпа, сұлы) өсіру технологиясын жетілдіріп, өндіріске енгізілді

е) Астана маңында ағашты өсімдіктерді өсіріп, орман жасатқан және қаланың, елдің экологиялық жағдайын жақсарту жөніндегі Елбасы Н. Ә. Назарбаевтың идеясын жүзеге асыруда профессор К. Н. Жайлыбай бастамашы болып, күшті фотосинтездеуші әрі ұзақ жыл өмір сүретін арша, емен, акация, үйеңкі, бозарша (туя), бозарша, сирень өсірудің ең арзан әдістемесін дайындап, мектептерде өсіруде (Алматы ақшамы, № 13, 26.01, 2012 ж.).

Профессор К. Н. Жайлыбайдың басшылығымен 2 ғылым докторы, 1 магистр дайындалды. Республикалық, шетелдік журналдарда, ағымдық басылымдарда 405 ғылыми еңбегі жарияланды, соның ішінде 6 монография, 2 оқулық, 7 оқу құралы, 12 кітапша (брошюра), күріш және ерте дәнді дақылдар егіншілігі өндірісіне 15 ұсыныс, өнертабысқа берілген 3 патенті бар. Олар өндірісте енгізілген. Оның монографиялық еңбектерінің мазмұны, ғылыми зерттеу нәтижелері, өнертабыс және өндіріске ұсыныстары Республикалық және халықаралық конференцияларда баяндалып талқыланды.

Марапаттаулар және жетістіктер:

1. «Қазақстан агроөндірістік кешені саласында ең көп оқылатын авторлар» номинациясы бойынша «Парасат» сыйлығының III дәрежелі дипломымен (30.10.2009 ж.);

2. Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университеті бойынша 2011 жылдың «Үздік ғалым» номинациясының III дәрежелі дипломымен;

3. Қызылорда облысы Шиелі ауданының экономикасына елеулі үлес қосқаны үшін «Ыбырай Жақаев – 120 жыл» мерекелік медалімен марапатталған (2011 ж.);

4. Российская Академия Естествознания присвоил *Жайлыбаю Келису Нурмашулы* ученое звание *члена-корреспондента Академии*, диплом № 8668 от 25.02.2016 г.

5. Решением Президиума Российской Академии Естествознания *Жайлыбаю Келису Нурмашулы* присвоено почетное звание “*Заслуженный деятель науки и образования*”. Удостоверение № 01754, протокол № 560 от 25.02.2016 (Сертификат № 01754).

6. Решением (22.12.2015 г.) Президиума Российской Академии Естествознания за *выдающийся вклад* в развитие биологической науки, генетики, селекции и растениеводства *Жайлыбай Келис Нурмашулы* награжден медалью им. *Н.И.Вавилова*; Удостоверение № 1082, Протокол № 560 (Сертификат № 01229, 22.02.2015 г.).

7. Решением Президиума Российской Академии Естествознания *Жайлыбай Келис Нурмашулы* награжден медалью имени *В.И.Вернадского* за успехи в развитии отечественной науки; Удостоверение № 2024, Протокол № 560 от 25.02.2016.

8. Решением Президиума Российской Академии Естествознания *Жайлыбаю Келису Нурмашулы* присвоено почетное звание “Заслуженный деятель науки и техник”. Сертификат № ЗДНТ 0136 (0286).

9. Российской Академии Естествознания награждает *Келис Нурмашулы Жайлыбай* орденом *Екатерины Великой* за служение науке и просвещению. Сертификат EG 210 25.02.2016.

10. Российская Академия Естествознания награждает *Келис Нурмашулы Жайлыбай* орденом *Александра Великой* за научные победы и свершения. Сертификат AG 676. 25.02.2016.

11. Academy of Natural History. Certificate № S 0149. This Certificate is proudly presented to *Jailibay Kelis Nurmashuli* International Academy of Natural History Full Member. (2016.02.25).

12. European Scientific and Industrial Consortium *Jailibay Kelis* Awarded the Gold medal of the “*European Quality*” № 627 (2016).

13. European Scientific and Industrial Consortium. *Labore et Scientia* Жайлыбай Келис Нурмашулы 25.02.2016 награждается орденом “*Labore et Scientia*”- Трудом и знанием. Удостоверение № 594 (693).

14. European Scientific and Industrial Consortium. *Primus Inter Pares*. Жайлыбай Келис Нурмашулы 25.02.2016 награждается орденом “*Primus Inter Pares*- Первый среди равных”. Удостоверение № 302 (501). (суретте).



Россия Жаратылыстану Академиясының Президенті М. Ю. Ледванов профессор, Академияның корреспондент-мүшесі К. Н. Жайлыбайға медалдар, ордендер, сертификаттар тапсыру сәті

Профессор К. Н. Жайлыбай Экология мамандығы бойынша 2 оқулық, 5 оқу құралын, 2 оқу әдістемелік кешенін дайындап шығарды. Қазіргі кезде осы оқу құралдарын студенттер сабақтарда пайдалануда.

Профессор К. Н. Жайлыбай педагогикалық жұмыста білікті маман – лектор екенін көрсетті, сабақтарды қазақ және орыс тілінде, терең ғылыми-теориялық деңгейде жүргізеді. Оның ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелері Қазақстандық ауыл шаруашылық ғылымына, биология, экология ғылымдарына елеулі үлес қосуда. Сондықтан Россияның Жаратылыстану Академиясы Президиумының шешімімен (22.12.2015 ж.) биология, экология, генетика, селекция, өсімдіктер шаруашылығы ғылымдарына зор үлес қосқаны үшін *Н.И.Вавилов және В.И.Вернадский атындағы медалдерімен марапатталған*.

Қазіргі кезеңде Елорда маңында орман жасатқан *Елбасы Н.Ә.Назарбаевтың өнегесін, идеясын ауылдық жерлерде жүзеге асыру мақсатында* профессор К. Н. Жайлыбай Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университетінің және Орталық Азия университетінің студенттеріне, Жамбыл, Қарасай, Еңбекшіқазақ аудандарының мектептеріндегі биология, география, экология мамандығы мұғалімдері мен оқушыларына күшті фотосинтездеуші әрі ұзақ жыл өсетін емен, арша, акация, үйеңкі, туя, бозарша, сирень ағаштарын тұқымынан өсірудің ең арзан әдістемесін үйретіп, оларды жылда-жылда көптеп өсіріп, Қазақстанның экологиялық жағдайын жақсартуға, жастарды экологиялық патриотизмге тәрбиелеуде өзіндік үлесін қосуда.

*Бәкірұлы Қ., Ы. Жақаев атындағы
Қазақ күріш шаруашылығы ғылыми зерттеу институты,
Селекция және тұқым шаруашылығы бөлімінің меңгерушісі,
а.и.ғ.д., профессор*

МАЗМУНЫ

| | |
|---|-----|
| <i>Тайпақова С.М., Сметенов И.Т., Қуанбай А.Қ., Бурибаева А.С., Бисенбаев А.К.</i> Ашытқылар хромосомасының <i>HO</i> локусына бағытталған интеграциялық экспрессиялаушы векторды құрастыру..... | 5 |
| <i>Асанова Г.Қ., Шәушекөв З.Қ., Байтулин И.О., Әдекенов С.М.</i> Қарқаралы бөріқаракаты өсімдігін (<i>Berberis karkaralensis</i> Korn. et Potap.) <i>in vitro</i> дақылға енгізу..... | 15 |
| <i>Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Богоявленский А.П., Жуманов Ж.Ж., Омиртаева Э.С., Березин В.Э.</i> Қапшағай су қоймасының вирустық әртүрлілігін зерттеу..... | 21 |
| <i>Тұрсынова А., Сүнненова Н.С., Ережепова Н., Сәрсенбаева Н.Б., Қалекешов А.М., Макашев Е.К.</i> Бентонит пен хлорелла негізінде жасалған азықтық қоспаның ауыл шаруашылық малы мен құстар организмiне әсерi..... | 27 |
| <i>Тойшибеков М.М., Тойшибеков Е.М., Валиева Г.А.</i> Қойдың суперогуляциясын индукциялау және эмбриондарының өмiршеңдiгiне әртүрлi криопротектанттар мен мұздатудың әртүрлi режимдерiнiң әсерiн зерттеу..... | 34 |
| <i>Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н., Баяқышова К., Турлыбаева З.Ж., Утегенова Н.М., Кошелева Л.А., Чугай О.Г.</i> Ауылшаруашылығы малдары мен құстарын аралас iшек инфекциясынан емдеуде және оның алдын алу үшiн қолданылатын пробиотиктiң реактивирлеушi және сәуле ауруларына қарсы белсендiлiгi..... | 40 |
| <i>Дәлелханқызы А., Мамытова Н.С., Бескемпірова Ж.Д., Тілеген Б., Кузовлев В.А., Хакімжанов А.А.</i> Хитин-глюканды кешені мен хитозан олигосахаридтің бидай өскіндеріндегі β-1,3-глюканаза және хитиназа белсенділігіне әсері..... | 46 |
| <i>Жатқанбаев А.Ж., Нысамбаева С.М., Жатқанбаева Д.М.</i> Балқаш шөл аймағындағы оба ошағының Балқаш көлінің оңтүстік жағалауында сұр егеуқұйрықтың (<i>Rattus norvegicus</i>) пайда болуы жайында..... | 54 |
| <i>Исмаилова А.Ж., Мергенбаева М.Т.</i> Ревматизмдік безгек аясында миастения дебютінің клиникалық жағдайы..... | 59 |
| <i>Қалдыбекова С.Б., Маметова А.З., Айтқұлова Р.Э., Елеманова Ж.Р., Оспанова А.А.</i> Оңтүстік Қазақстан облысының аймағындағы өзен арналарының экологиялық ахуалын зерттеу..... | 62 |
| <i>Лесбекова С.Ж., Құдасова Д.Е., Қалдыбекова Г.М., Абдиева Т., Серікбай А.</i> Сүтті-өсімдік негізіндегі өнімнің оптималды температурасын және жылумен өңдеу ұзақтығын анықтау..... | 67 |
| <i>Майлиева Г.К., Мансуров З.А., Лесбекова С.Ж., Қудасова Д.Е., Дауылбай А.Д.</i> Диборид наноұнтақтарын синтездеу..... | 73 |
| <i>Сүнненова Н.С., Тұрсынова А., Ережепова Н., Сәрсенбаева Н.Б., Қалекешов А.М., Макашев Е.К.</i> Ауыл шаруашылық малына арналған бентонит пен хлорелла негізінде жасалған азықтық қоспа..... | 78 |
| <i>Мырзахметова М.Қ., Аралбаева А.Н., Маматаева А.Т., Өтеғалиева Р.С., Жаманбаева Г.Т.</i> Қартаю кезіндегі қанның биохимиялық көрсеткіштеріне өсімдік препараттың әсері..... | 85 |
| <i>Отарбекова А.А., Айтқұлова Р.Э., Лесбекова С.Ж., Есимова А.М., Қудасова Д.Е.</i> Әртүрлі кендер мен концентраттар үлгілерінен СЖЭ биосілтсіздендірудің мүмкіндіктерін зерттеу..... | 90 |
| <i>Сейдалиева Л.Х., Сокольский А.Ф., Волкова И.В.</i> Каспий теңізінің экологиялық және биологиялық зерттеулерінің (ЭБЗ) әдістемелік мәселелері..... | 96 |
| <i>Исақұл Е.Қ., Толбаев Н.Б.</i> Қаратау өңірінің су маңы құстары, олардың таралуы мен әралуандылығы..... | 107 |
| <i>Сейдалиева Л.Х., Кенжетеев Г.Ж.</i> Манғыстау облысының бақылау порттарында орнитофауна өкілі қанаттылардың зерттеу жағдайы..... | 111 |
| <i>Тұрмағамбетова А.С., Омиртаева Э.С., Алексюк М.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э.</i> <i>In vitro</i> және <i>in vivo</i> жағдайында өсімдік текті жаңа вирусқа қарсы «Флавомир» препаратының терапиялық және профилактикалық белсенділігін бағалау..... | 118 |
| <i>Перфильева А.В., Әбдікерім С.Е., Джантаева К.Б., Иксан О.А., Мұхамбетов О.Б., Касимуратова С.А., Кузовлева Е.Б., Утегенова Қ.С., Жүнісова Г.С., Хусаинова Э.М., Афонин Г.А., Бекманов Б.О., Жансүгірова Л.Б.</i> Колоректалды ісіктің дамуына <i>p16</i> және <i>SEPT9</i> гендері метильденуінің әсерін талдау..... | 127 |
| <i>Тукбасов М.К., Қыдырбаева А.Е., Турметова Г.Ж.</i> Қаракөл қозысы тері құрылымының салыстырмалы морфологиясы..... | 138 |

Пікірлер

| | |
|---|-----|
| <i>Саданов А.Қ.</i> К. Н. Жайлыбайдың «Күріш» тақырыбындағы монографиясына пікір..... | 144 |
|---|-----|

Мерейтойлар

| | |
|--|-----|
| ЖАЙЛЫБАЙ Келіс Нұрмашұлы – 80 жас..... | 146 |
|--|-----|

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----|
| Тайпакова С.М., Смикенов И.Т., Куанбай А.К., Бурибаева А.С., Бисенбаев А.К. Конструирование интегрального экспрессионного вектора, направленного на <i>HO</i> локус хромосомы дрожжей..... | 5 |
| Асанова Г.К., Шаушеков З.К., Байтулин И.О., Адекенов С.М. Введение в культуру <i>in vitro</i> барбариса каркаралинского (<i>Berberis karkaralensis</i> Korn. et Potar.)..... | 15 |
| Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Богоявленский А.П., Жуманов Ж.Ж., Омиртаева Э.С., Березин В.Э. Изучение вирусного разнообразия Капчагайского водохранилища..... | 21 |
| Турсьнова А., Сунненова Н.С., Ережепова Н., Сарсенбаева Н.Б., Калекешов А.М., Макашев Е.К. Влияние кормовой добавки на основе бентонита и хлореллы на организм сельскохозяйственных животных и птиц..... | 27 |
| Тойшибеков М.М., Тойшибеков Е.М., Валиева Г.А. Индукция суперовуляции и изучение влияния различных криопротектантов и разных режимов замораживания на выживаемость эмбрионов овец..... | 34 |
| Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н., Баяқышова К., Турлыбаева З.Ж., Утегенова Н.М., Кошелева Л.А., Чугай О.Г. Противолучевая и реактивирующая активность пробиотика, используемого для профилактики и лечения смешанных кишечных инфекций у сельскохозяйственных животных и птиц..... | 40 |
| Далелханкызы А., Мамытова Н.С., Бескемтирова Ж.Д., Тилеген Б., Кузовлев В.А., Хакимжанов А.А. Влияние хитин-глюканового комплекса и хитозан олигосахариды на активацию β -1,3-глюканазы и хитиназы проростков пшеницы..... | 46 |
| Жатканбаев А.Ж., Нысамбаева С.М., Жатканбаева Д.М. О появлении серой крысы (<i>Rattus norvegicus</i>) у южного побережья озера Балхаш – в Прибалхашском пустынном очаге чумы..... | 54 |
| Исмаилова А.Ж., Мергенбаева М.Т. Клинический случай дебюта миастении на фоне ревматической лихорадки..... | 59 |
| Калдыбекова С.Б., Маметова А.З., Айткулова Р.Э., Елеманова Ж.Р., Оспанова А.А. Исследование экологического состояния речных каналов в зоне Южно-Казахстанской области..... | 62 |
| Лесбекова С.Ж., Кудасова Д.Е., Калдыбекова Г.М., Абдиева Т., Серікбай А. Определения оптимальной температуры и продолжительности тепловой обработки на основе молочно-растительного продукта..... | 67 |
| Майлиева Г.К., Мансуров З.А., Лесбекова С.Ж., Кудасова Д.Е., Дауылбай А.Д. Синтез нанопорошка диборида..... | 73 |
| Сунненова Н.С., Турсьнова А., Ережепова Н., Сарсенбаева Н.Б., Калекешов А.М., Макашев Е.К. Кормовая добавка для сельскохозяйственных животных на основе бентонита и хлореллы..... | 78 |
| Мурзахметова М.К., Аралбаева А.Н., Утегалиева Р.С., Маматаева А.Т., Жаманбаева Г.Т. Эффект растительного препарата на биохимические показатели крови при старении..... | 85 |
| Отарбекова А.А., Айткулова Р.Э., Лесбекова С.Ж., А.М. Есимова, Кудасова Д.Е. Изучение возможности биовыщелачивания РЗЭ из образцов различных руд и концентратов..... | 90 |
| Сейдалиева Л.Х., Сокольский А.Ф., Волкова И.В. Методологические проблемы эколого-биологических исследований (ЭБИ) Каспийского моря..... | 96 |
| Исакул Е.К., Толбаев Н.Б. Околоводные птицы Каратауского региона, их распространение и видовое разнообразие..... | 107 |
| Сейдалиева Л.Х., Кенжетасов Г.Ж. Исследование состояния пернатых представителей орнитофауны на мониторинговых станциях портов Мангистауской области..... | 111 |
| Турмагамбетова А.С., Омиртаева Э.С., Алексюк М.С., Богоявленский А.П., Березин В.Э. Оценка терапевтической и профилактической активности нового противовирусного препарата растительного происхождения «Флавомир» <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> | 118 |
| Перфильева А.В., Абдикерим С.Е., Джантаева К.Б., Иксан О.А., Мухамбетов О.Б., Касимуратова С.А., Кузовлева Е.Б., Утегенова К.С., Жунусова Г.С., Хусаинова Э.М., Афонин Г.А., Бекманов Б.О., Жансугурова Л.Б. Анализ ассоциации метилирования генов <i>p16</i> и <i>SEPT9</i> с риском развития колоректального рака..... | 127 |
| Тукбасов М.К., Кыдырбаева А.Е., Турметова Г.Ж. Сравнительная морфология структуры шкур каракулевых ягнят..... | 138 |

Рецензии

| | |
|--|-----|
| Саданов А.К. Отзыв на монографию Жайлыбай К. Н. «Күріш»..... | 144 |
|--|-----|

Юбилейные даты

| | |
|---|-----|
| ЖАЙЛЫБАЙ Келис Нурмашевич – 80 лет..... | 146 |
|---|-----|

CONTENTS

| | |
|--|-----|
| <i>Taipakova S.M., Smekenov I.T., Kuanbay A.K., Buribaeva A.C., Bissenbaev A.K.</i> Construction of yeast chromosome <i>HO</i> locus oriented integrative expression vector..... | 5 |
| <i>Asanova G.K., Shaushekov Z.K., Baitulin I.O., Adekenov S.M.</i> Introduction to culture of in vitro of <i>Berberis karkaralensis</i> Korn. et Potap. | 15 |
| <i>Alexyuk M.S., Alexyuk P.G., Bogoyavlenskiy A.P., Zhumanov Zh.Zh., Omirtayeva E.S., Berezin V.E.</i> Study of viral diversity of Kapchagai reservoir..... | 21 |
| <i>Tursynova A., Sunnenova N.S., Erezhepova N., Sarsenbayeva N.B., Kalekeshov A.M., Makashev E.K.</i> Effect of the feed additive based on bentonite and chlorella body of agricultural animals and birds..... | 27 |
| <i>Toishibekov M.M., Toishibekov Y.M., Valiyeva G.A.</i> Superovulation induction and study of sheep's embryos viability after treatment of various cryoprotectants and using different cooling rates..... | 34 |
| <i>Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Bayakyshova K., Turlybayeva Z.Zh., Utegenova N.M., Kosheleva L.A., Chugai O.G.</i> The radioprotective and reactivating activity of the probiotic used for prevention and treatment of the mixed intestinal infections at farm animals and birds..... | 40 |
| <i>Dalelhankhyzy A., Mamytova N.S., Beskempirova Zh.D., Tilegen B., Kuzovlev V.A., Khakimzhanov A.A.</i> Influence of chitin-glucan complex and chitosan oligosaccharide on the activity β -1,3-glucanase and chitinase of wheat plants..... | 46 |
| <i>Zhatkanbayev A.Zh., Nyssambayeva S.M., Zhatkanbayeva D.M.</i> On the appearance of brown rat (<i>Rattus norvegicus</i>) near the southern coast of Balkhash lake in the Southern Balkhash desert plague outbreak..... | 54 |
| <i>Ismailova A., Mergenbayeva M.</i> Clinical case of myasthenia in a patient presenting with rheumatic fever..... | 59 |
| <i>Kaldybekova S.B., Mametova A.Z., Aitkulova R.E., Elemanova Sh.R., Ospanova A.A.</i> Research of ecological state of river channels in the zone of the South-Kazakhstan region..... | 62 |
| <i>Lesbekova S.Sh., Kudasova D.E., Kaldybekova G.M., Abdieva T., Serikbai A.</i> Determination of the optimum temperature and duration of heat processing on the basis of lacto-vegetarian product..... | 67 |
| <i>Milieuva G.K., Mansurov Z.A., Lesbekov S.J., Kudasova D.E., Daulbai D.A.</i> The synthesis of the diboride nanopowder..... | 73 |
| <i>Sunnenova N.S., Tursynova A., Erezhepova N., Sarsenbayeva N.B., Kalekeshov A.M., Makashev E.K.</i> Feed additive for farm animals based on bentonite and chlorella..... | 78 |
| <i>Murzahmetova M.K., Aralbaeva A.N., Mamataeva A.T., Utegalieva R.S., Zhamanbayeva G.T.</i> Effect of herbal preparation on blood biochemical parameters in aging..... | 85 |
| <i>Otarbekova A.A., Aitkulova R.E., Lesbekova S.Sh., Esimova A.M., Kudasova D.E.</i> Exploration of the possibility of bioleaching of REE from samples of different ores and concentrates..... | 90 |
| <i>Seydaliyeva L.H., Sokolsky A.F., Volkova I.V.</i> Methodological problems of ecological and biological researches (EBR) of the Caspian sea..... | 96 |
| <i>Isakul E.K., Tolbaev N.B.</i> Waterbirds of Karatau region, their distribution and diversity..... | 107 |
| <i>Seydaliyeva L.H., Kenzhetaev G.J.</i> Research status of representatives feathered avifauna to the monitoring station Mangystau port area..... | 111 |
| <i>Turmagambetova A.S., Omirtayeva E.S., Alexyuk M.S., Bogoyavlenskiy A.P., Berezin V.E.</i> Therapeutic and prophylactic activities of the new antiviral plant origin preparation "Flavovir" in vitro and in vivo..... | 118 |
| <i>Perfilyeva A.V., Abdikerim S.E., Djantayeva K.B., Ixan O.A., Muchambetov O.B., Kasimuratova S.A., Kuzovleva E.B., Utegenova K.S., Zhumussova G.S., Khussainova E.M., Afonin G.A., Bekmanov B.O., Djansugurova L.B.</i> Analysis of the association of methylation genes <i>p16</i> and <i>SEPT9</i> with the risk of colorectal cancer..... | 127 |
| <i>Tuyekbasov M.K., Kydyrbayeva A.E., Turmetova G.J.</i> The comparative morphology of skins structure of astrakhan lambs..... | 138 |

Reviews

| | |
|--|-----|
| <i>Sadanov A.K.</i> Review on the monograph of Zhaylybay K. N. "Kurish"..... | 144 |
|--|-----|

Anniversaries

| | |
|--|-----|
| ZhAJLYBAJ Kelis Nurmashevich – 80 years..... | 146 |
|--|-----|

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 24.05.2016.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
9,5 п.л. Тираж 300. Заказ 3.