

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**

5 (305)

**ҚЫРКҮЙЕК – ҚАЗАН 2014 ж.
СЕНТЯБРЬ – ОКТЯБРЬ 2014 г.
SEPTEMBER – OCTOBER 2014**

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

Бас редактор
ҚР ҰҒА корреспондент-мүшесі, медицина ғылымдарының докторы, профессор
Ж. Ә. Арзықұлов

Редакция алқасы:

ҚР ҰҒА академиктері **И.О. Байтулин** (бас редактордың орынбасары), **Н.Ә. Айтқожина**, **Т.А. Мүминов**, **Р.И.Берсімбаев**, **М.Х. Саятов**; ҚР ҰҒА корреспондент мүшелері **С.К. Ақшолақов**, **М.К. Алшынбаев**, **Б.Б. Баймаханов**, **А.В. Балмұханова**, **В.Э. Березин**, **А.К. Бисенбаев**, **Т.К. Ботабекова**, **Қ.Ж. Жамбакин**, **Д.Р. Қайдарова**, **В.Н. Локшин**, **Е.К. Мақашев**, **Н.П. Огарь**, **Т.К. Рахыпбеков**; жетекші ғалымдар: **Омаров Рүстем Төкенұлы**, **Исқаков Болат Құдайбергеноұлы**, **Беляев Николай Николаевич**, **Тұрысбеков Ерлан Кенесбекұлы**; *Халықаралық редакция алқасы*: **Сарбассов Дос** (Хьюстон, АҚШ), **Сапарбаев Мұрат** (Париж, Франция), **Абжанов Архат** (Бостон, АҚШ), **Абелев Серікбай Кәрімұлы** (Мәскеу, Ресей), **Bruno Lunenfeld** (Israel), **Лось Дмитрий Анатольевич** (Мәскеу, Ресей), **Saul Purton** (London, UK); биология ғылымдарының кандидаты **Қ. Ә. Тойбаева** (жауапты хатшы).

Главный редактор
член-корреспондент НАН РК, доктор медицинских наук, проф.
Ж. А. Арзықұлов

Редакционная коллегия:
академики НАН РК **И.О. Байтулин** (заместитель главного редактора), **Н.А. Айтхожина**, **Т.А. Муминов**, **Р.И.Берсимбаев**, **М.Х. Саятов**; член-корреспонденты НАН РК **С.К. Ақшулақов**, **М.К. Алчинбаев**, **Б.Б. Баймаханов**, **А.В. Балмуханова**, **В.Э. Березин**, **А.К. Бисенбаев**, **Т.К. Ботабекова**, **Қ.Ж. Жамбакин**, **Д.Р. Қайдарова**, **В.Н. Локшин**, **Е.К. Мақашев**, **Н.П. Огарь**, **Т.К. Рахыпбеков**; ведущие ученые: **Омаров Рүстем Токенович**, **Исқаков Болат Құдайбергенович**, **Беляев Николай Николаевич**, **Тұрысбеков Ерлан Кенесбекұлы**; *Международный редакционный совет*: **Сарбассов Дос** (Хьюстон, США), **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция), **Абжанов Архат** (Бостон, США), **Абелев Серікбай Каримович** (Москва, Россия), **Bruno Lunenfeld** (Israel), **Лось Дмитрий Анатольевич** (Москва, Россия), **Saul Purton** (London, UK); кандидат биологических наук **К.А. Тойбаева** (ответственный секретарь).

Editor-in-chief
correspondent-member of the NAS of the RK, doctor of medical sciences, prof.
Zh. A. Arzykulov

Editorial staff:
academicians of the NAS of the RK **I. O. Baitullin** (deputy editor-in-chief), **N. A. Aitkhozhina**, **T.A. Muminov**, **R.I. Bersimbaev**, **M.H. Sajatov**; correspondent members of NAS of the RK **S.K. Akshulakov**, **M.K. Alchinbaev**, **B.B. Bajmahanov**, **A.V. Balmuhanova**, **V. Je. Berezin**, **A.K. Bisenbaev**, **T.K. Botabekova**, **K.Zh. Zhambakin**, **D.R. Kajdarova**, **V.N. Lokshin**, **E.K. Makashev**, **N.P. Ogar'**, **T.K. Rahypbekov**; leading scientists: **Omarov Rustem Tokenovich**, **Iskakov Bolat Kudajbergenovich**, **Beljaev Nikolaj Nikolaevich**, **Turysbekov Erlan Kenesbekovich**; *International editorial board*: **Sarbassov Dos** (Houston, USA), **Saparbaev Murat** (Paris, France), **Abzhanov Arhat** (Boston, USA), **Abelev Serikbaj Karimovich** (Moscow, Russia), **Bruno Lunenfeld** (Israel), **Los' Dmitrij Anatol'evich** (Moscow, Russia), **Saul Purton** (London, UK); candidate of biological Sciences **K.A. Tojibaeva** (executive secretary).

«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.akademiyanauk.kz

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

УДК 582.288

Ж. Т. АБДРАСУЛОВА, Ж. Ж. ҚҰЖАНТАЕВА

(Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан.
E-mail: Zh.Abdrasahulova@mail.ru)

ТАРЫНЫҢ, ЖҮГЕРІНІҢ ТҰҚЫМДАРЫН ЗАРДАПТАЙТЫН САҢЫРАУҚҰЛАҚТАР МЕН БАКТЕРИЯЛАР ТҮРЛЕРІ

Аннотация. Тары мен жүгерінің тұқымын зардаптайтын саңырауқұлақтардың түрлерінің биологиялық, экологиялық, экономикалық ерекшеліктерін зерттеп, күресу шараларының негізін жасау өзекті мәселе болып табылады. Зерттеу объектісі Қызылорда облысы Шиелі ауданы Телгол шаруашылығы қоймасынан және Алматы облысы Қарой шаруашылығы астық қоймасынан тары мен жүгері тұқымы алынып В. И. Семеновтың биологиялық әдісімен тұқымдардың саңырауқұлақтар мен бактерия түрлерімен зардапталу ерекшеліктері анықталды.

Тірек сөздер: *Panicum miliaceum* L., *Zea Mays* L., *Sphacelotheca panici-miliacei* (Pers.) Bubak, *Ustilago zaeae* Beckm., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Macrosporium commune* Wall., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium glaucum* Link, *P.panici* Elliot., *P.holsi* Kendrick.

Ключевые слова: *Panicum miliaceum* L., *Zea Mays* L., *Sphacelotheca panici-miliacei* (Pers.) Bubak, *Ustilago zaeae* Beckm., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Macrosporium commune* Wall., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium glaucum* Link, *P.panici* Elliot., *P.holsi* Kendrick.

Keywords: *Panicum miliaceum* L., *Zea Mays* L., *Sphacelotheca panici-miliacei* (Pers.) Bubak, *Ustilago zaeae* Beckm., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Macrosporium commune* Wall., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium glaucum* Link, *P.panici* Elliot., *P.holsi* Kendrick.

Тары – бүгінгі таңда маңызды азықтық дақыл. Тары Қызылорда, Ақтөбе облысы аудандары халқының негізгі азығының бірі. Жыл сайын егіп, өнім жинайды. Тарының тұқымын зардаптайтын саңырауқұлақтар түрлерінің биологиялық, экологиялық, экономикалық ерекшеліктерін зерттеп, күресу шараларының негізін жасау өзекті мәселе болып табылады [1].

Қазақстанда тарыда ауру қоздыратын саңырауқұлақ пен бактерия түрлерін зерттеген ғалым – М. Қойшыбаев (1975 ж.).

Зерттеу материалдары мен әдістері

Қызылорда облысы Шиелі ауданы Телгол шаруашылығы қоймасынан және Алматы облысы Қарой шаруашылығы астық қоймасынан тары мен жүгері тұқымы алынып лабораторияда В. И. Семеновтың биологиялық әдісімен тары тұқымының саңырауқұлақтар мен бактерия түрлерімен зардапталу ерекшеліктері анықталды.

Нәтижелер және оларды талдау

Тары тұқымын зардаптайтын төмендегі түрлер табылды.

Тарының қаракүйесі. Буылтықтар күйінде тарының сабағында жеке дән қауыздарында пайда болатын паразитті саңырауқұлақтар. Сыпырғыш гүл шоғыры бұтақшаларының дәні және оның қауыздары тұтасымен сыртынан ақ, сұр немесе күлгіндеу қабыршақпен көмкерілген, іші ірі қара күйенің хламидоспораларына толы болады. Сабақтарында спораға толы буылтықтар түзеді. Зардапталған өсімдіктер көп түптенеді, аласа келеді. Бұл ауруды *Sphacelotheca panici-miliacei* (Pers.) Bubak қоздырады. Хламидоспоралары дөңгелек, сопақ пішінді, 6,5–8,4x5,2–9,7 мкм. Сыртқы қабықшасы біртегіс. Ауру тұқым арқылы таралады.

Астықты жинағанда дәндерінің орнындағы қаракүйенің хламидоспоралары үгітіліп шашылып, топыраққа немесе дәннің үстіне түседі. Көктемде хламидоспоралар дәнмен бірге өнеді. Алдымен хламидоспоралардың дикарионды ядросы қосылып, түзілген диплоидты клеткасы мейозды бөлініп төрт гаплоидты клетка түзіледі. Оны базидий деп атайды. Әрбір клеткадан аяқшасы бар базидиоспора түзіледі. Әрқайсысында бір гаплоидты ядро болады. Ол клеткалардан әлсіз гаплоидты мицелий өсіп, бірақ олар өсімдікті зардаптай алмайды. Бір-біріне клеткалары қарама-қарсы өсінділер беріп, түйіскен жері ферменттің қатысымен еріп, протопласты бір клеткадан екінші клеткаға өтеді. Бірақ ядролары қосылмай жұптасады. Одан дикарионды мицелий жетіледі. Осы мицелий ғана зардаптауға қабілетті. Тары өскінінің топырақ бетіндегі вегетативті мүшелеріне түседі. Өсіп зардаптайды. Тары өскінінің өсу нүктесіне өтіп, өсімдікпен бірге өседі. Кей жағдайларда бір хламидоспораларда түзілген базидий екінші хламидоспорада түзілген базидий клеткасымен қосылып ядросы жұптасады. Нәтижесінде ауру қоздырғыштың жаңа нәсілі түзіледі.

Дикарионды мицелийдің түзілуіне 25-26°C 21-26 сағат уақыт қажет. Температура төмен болғанда 18-21° 3-4 күнге созылады.

Өсу нүктесіне өткен паразит саңырауқұлақтың клеткаларының ядросы синхронды бөлініп, жаңа клеткалар түзіп өседі. Тары гүлдегенде аналықтың түйініне қоректік зат қарқынды түсіп, мицелий тез өсіп көбейеді. Аналық түйіннің ұлпасы ыдырайды. Паразитті саңырауқұлақ клетка қабығы қалың жаңа мицелий түзеді. Олар синхронды көп екі ядролы клеткаларға бөлінеді. Әрқайсысы хламидоспораға айналады.

Қаракүйе ауруы қазір Қызылорда және Ақтөбе облыстарының тары егетін барлық ауданда-рында кездеседі. Жыл сайын тары өнімін 10 % төмендетеді [1].

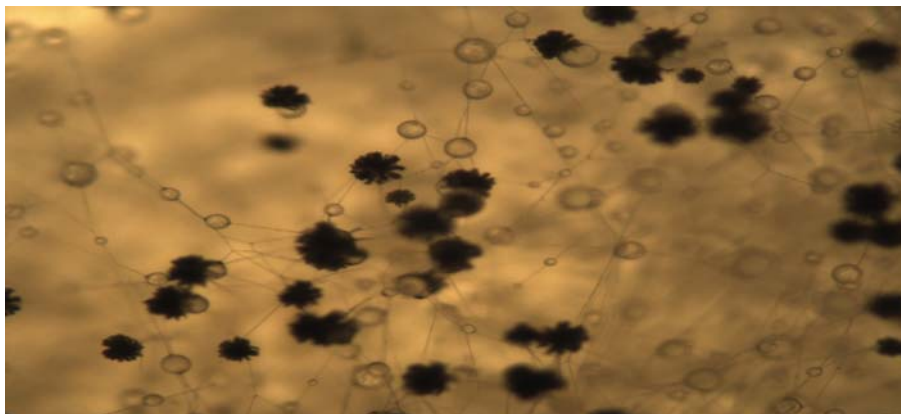
Тарының фузариозы. Аурудың қоздырғышы сапрофитті қоректенетін түр *Fusarium oxysporum* Schlecht. Өскінінің тамыр мойны, тамыры, сабағының буындары, сабағының негізі қоңыр түсті болып, біртіндеп шіріп кетеді. Зардапталған ұлпалары және тұқымдары қызғылт, күлгін түсті болып өзгереді. Склероцилер жетіледі. Макроконицилері көтеріліп өсетін мицелиде және пионно-тада жетіледі. Макроконицилері ұшы жіңішкерген, иілген аяқшасы бар немесе жоқ. 3 клеткалы 27-38x3,2-3,7 мкм. Микроконицилері, хламидоспоралары өте көп болып жетіледі. Ауру тұқымы арқылы және өсімдік қалдықтарында сақталып өсімдікті зардаптайды.

Астық қоймасында сақталу режимі бұзылғанда патоген қарқынды дамып, ауырмаған тұқымдарды зардаптайды.

Тарының макроспориозы. Ауруды қоздырғыш сапрофитті саңырауқұлақ түрі *Macrosporium commune* Wall. Тарының тұқымын зардаптайды, сұр жабын түзеді. Чапека қоректік ортасында қоңырқай сұр түсті колониялар түзеді. Конидиялары қоңыр түсті, шашыраңқы болып жетіледі. Конидия сағағы бұтақталған, конидилері көп клеткалары, дара, торлы бөлімдерге бөлінген. Көлденең перделері 5-6, ұзына бойғы перделері 1-2, өлшемі 15-56x9-21 мкм.

Патогенді саңырауқұлақтармен бірге тұқымдық және азықтық астықтармен сапрофитті қоректеніп, сапасын төмендетеді.

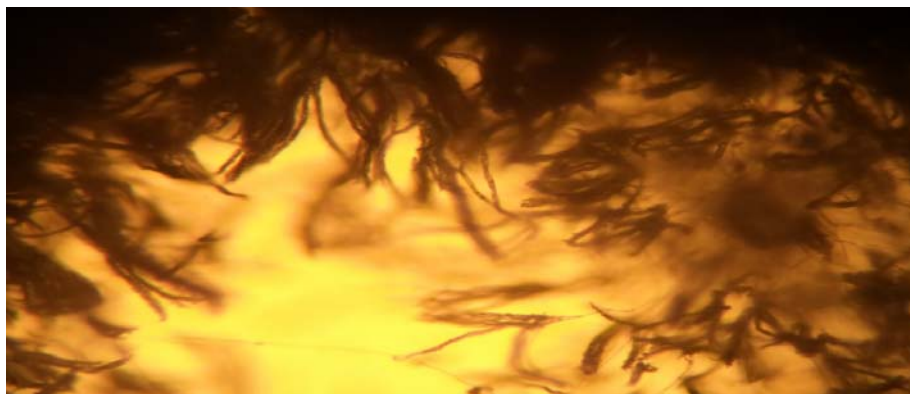
***Aspergillus niger* Tiegh.** Қоймада қарқынды дамитын түр. Конидия сағағының жоғарғы жағы көпіршік тәрізді кеңейген одан тізбектеліп конидиялар жетіледі. Конидиялары бір клеткалы эллипсоид, шар тәрізді, тегіс, қара түсті, диаметрі – 2,6-5,2 мкм (1-сурет).



1-сурет – Тары дақылдындағы *Aspergillus niger* саңырауқұлағы

Сонымен бірге *A. fumigatus* Fres., *A. restrictus* G.Sm., *A. glaucus* Raper et Fennell, *A. flavus* Link, *A. candidus* Link түрлері де кездесетіндігі анықталды.

Пенициллез ауруын *Penicillium glaucum* Fr. қоздырады (2-сурет). Қоймада қарқынды дамитын түр. Тұқымның ұрығының сыртында жасыл үлпек түзіледі. Оның дамуы физиологиялық әлсіз тұқымдарда қарқынды жүреді. Біртіндеп тұқымды жасыл үлпек басады. Ол мицелиден және көп клеткалы бұтақталған конидия сағағынан бөлініп жатқан тізбекті конидиялардан тұрады. Конидиялары майда, шар тәрізді, түссіз, диаметрі 2,6-3,9 мкм. Бұл түр кең таралған.



2-сурет – Пенициллез ауруының қоздырғышы *Penicillium glaucum* Fr.

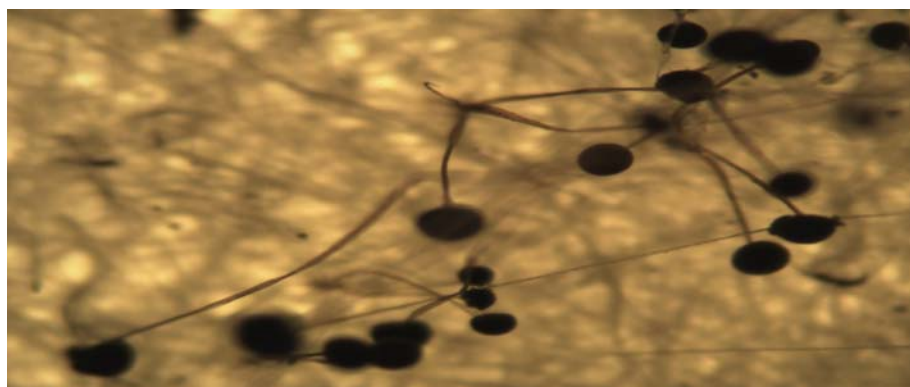
Тарының қара зеңі. Ауруды қоздырушы сапрофитті әлсіз паразитті саңырауқұлақ түрі *Rhizopus nigricans* Ehr. Тары тұқымының бетіне көп споралары түседі. Ылғалды камерада аз уақытта саңырауқұлақтың сұр түсті көтеріңкі мицелиі жетіліп, Петри ыдысын толтырып жібереді. Спорангий сағағы 1-3-тен топталып, кейде дара болып жетіледі. Ұзындығы – 1-3 мм, спорангий диаметрі – 100-150 мкм, споралары ірі, шар тәрізді, эллипсоидты, бұрышты, 8-14 x 6-11 мкм.

Жүгерінің көпіршікті қаракүйесі. Ауру қоздырғышы *Ustilago zeae* (Beckm.) Ung. Базидиоспоралардан топырақта түзілген алғашқы мицелий жүгерінің жапырақ, сабағына түсіп, клеткалары карама-қарсы өсінділер беріп, цитоплазмалары қосылып, ядролары жұптасады. Олардан жетілген дикарионды соңғы мицелий ғана сол орындағы жүгерінің клетка қабығы жұқа жас ұлпаларын (гүл, буын аралығының негізі, жапырақ алақанын) зардаптайды [4].

Сыртынан қарағанда ірі ісіктер түзіліп, іші қаракүйенің хламидоспораларына толы болады.

Жүгерінің ризопусы. Ауруды қоздырғыш сапрофитті саңырауқұлақ *Rhizopus nigricans* Ehr. (3-сурет). Кейде жартылай паразит түрінде жемістерді және тірі азықтарды зардаптайды. *Rhizopus tritici* деген түрі қоймадағы ылғалдылығы нормадан жоғары астықтардың дәндерінде паразиттік қоректенуі басым болып, зиян келтіреді.

Спорангий сағағы 1-3-тен топталып кейде дара болып жетіледі. Биіктігі – 2-4 мм, спорангиялары шар тәрізді, споралары көбіне дұрыс пішінді болмайды, 8-14x6-11 мкм. Зиготалары ірі, 180-192 мкм, жүгерінің собығында, зардапталған қалдықтарында, басқа да өсімдік қалдықтарында қыстап шығады.



3-сурет – Жүгерінің ризопусы қоздырғышы *Rhizopus nigricans*

Зардапталған өсімдіктегі белгісі. Дәндерінің сүтті балауызды кезінде собықтың жоғарғы жағында сұр жіпшумақ түзіледі. Собықтың жабыны тұқымдарына желімделіп жабысып қалады. Түсі қаныққан сұр болып өзгереді. Жүгерінің көпіршікті қаракүйесі тәрізді кең таралған ауру түрі.

Жүгерінің сұр шірігі. Ауруды қоздырушы саңырауқұлақ түрі *Botrytis cinerea*. Гифалары түзсіз немесе сұр түсті, ені – 5,2 мкм. Конидия сағағы кеңейген, бөлімінің ұзындығы – 0,3-1 мкм; ені – 6-16,8-8,4 мкм. Қабығы қалың, төменгі бөлімі қоңыр, жоғарғы бөлімі түзсіз, бұтақталған, ұзындығы – 56-130x6,5-13 мкм, бұлардың өзі бұтақталып ұшы тістенген, оларда тығыз орналасқан конидиялар жетіледі. Конидилері жұмыртқа, эллипсоидты, дөңгелек тәрізді 7,8-13x5,2-7,8 мкм, түзсіз. Склероцилері ақшыл сұр түсті, кейін қарайып кетеді, ұзындығы – 2,6-7,8 мкм.

Конидиялары және склероцилері қыстап шығады. Көктемде склероцилері өніп, споралар түзіп зардаптайды. Саңырауқұлақтың дамуына ауаның және топырақтың ылғалдылығы қарқынды әсер етеді.

Саңырауқұлақ түрі Алматы облысы Қарасай ауданы Көлді елді мекенінің жанындағы Қазақ қыздар педагогикалық университетінің агробиостанциясының тәжірибе алаңында қыстап шыққан жүгерінің вегетативті мүшелері қалдықтарында және лабораторияда сақталған тұқымдарын ылғалды камераға қалдырғанда табылды.

Зең саңырауқұлағы *Penicillium sp.* жіпшумағы тығыз ақ түсті колония түзеді. Конидия сағағы вертикальды немесе тік бұрыш жасап бұтақталған. Конидилері тізбектеліп, шар немесе эллипсоид тәрізді болып жетіледі. Конидилері тегіс, тікенекті, түзсіз.

Сонымен бірге *Aspergillus* түрлері сұлы, бидай, сыпырғы тұқымдарын, *Penicillium sp* сұлы, арпа, бидай, тары өсімдіктерінің тұқымын, *Rhizopus nigricans* туысы түрі сұлы, бидай, жүгері, сыпыртқы тұқымдарын зардаптағандығы анықталды. Саңырауқұлақтар жыл сайын жүгерінің өнімін 3,0%, тарының өнімін 10 % төмендетеді.

Жаңадан жиналған астықта, әсіресе тары, жүгері тұқымдарында егістіктен келген микроскоптық саңырауқұлақтар *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* түрлері және басқалары басым болады.

Тары бактериозы. Тары бактериозын *Pseudomonas* туысына жататын бактериялардың екі түрі қоздырады. *P.panici* Elliot және *P.holsi* Kendrick. Соңғы түрін Қазақстанда Қойшыбаев зерттеді. Ауруға өсімдік барлық өсу фазаларында бейім келеді. Ауру жапырақты, сабақты, жапырақ қынапшаларын және гүлдің қабыршақтарын, тұқымдарын зардаптайды [1].

Жапырақта алдымен май тамған секілді жасыл-қоңыр дөңгелектеу, сопақтау, эллипс тәріздес дақтар пайда болады. Дақ бірте-бірте қоңыр тартады. Олардың шеттерінде қара қоңыр немесе қызыл қоңыр шеңбер пайда болады да, ортасы ашық қоңыр, сабан түстес болып өзгереді. Өсімдік ауруға қатты шалдыққанда жапырақтағы дақтар бір-бірімен қосылып, жапырақ қурап қалады.

Ауру қоздырғыш бактериялардың формасы таяқша тәріздес жеке немесе жұптасқан клеткалардан тұрады. Бактерия клеткаларының барлық қабықшасында талшықтары бар перитрихиалды болғандықтан олар өте қозғалғыш келеді. Бұл бактериялардың жеке клеткаларының ұзындығы 3-5 мкм де, ені – 1,3 мкм.

Жаңадан жиналған тұқымды қоймада сақтау кезінде микрофлорасының түрлік құрамы өзгереді. Құрғақ тұқымды сақтау кезінде микрофлорасын түзетін түрлер азаяды. Ылғалы жоғары тұқымдарды сақтау кезінде басқаша болып микробиологиялық процестер өзгереді. Егістіктен келген саңырауқұлақ түрлерін қоймада дамитын *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* туыстары түрлері ығыстырады. Салыстырмалы түрде төменгі ылғалдылықта ксерофитті түрлер *Aspergillus glaucus*, *A.restrictus* қарқынды өседі. Нәтижесінде олардың дамуы кезінде қойманың ылғалдылығы мен температурасы көтеріліп *A.flavus* және *A.candidus* түрлері қарқынды өседі.

Микроскоптық саңырауқұлақтардың астықтарда дамуының нәтижесінде олардың құрғақ заты азаяды, қоректік құндылығы, биологиялық, технологиялық, тұқымдық сапасы төмендейді. Өздігінен астық қызады, біртіндеп бүлінеді. Сонымен бірге микроскоптық саңырауқұлақтар тіршілік әрекеті кезінде адам және малға қауіпті токсинді, улы заттар бөледі.

ӘДЕБИЕТ

- 1 Койшыбаев М. Тарының аурулары. – Алматы: Қайнар, 1975. – 120 б.
- 2 Мырзамадиева М.А. Тары. – Алматы: Қайнар, 1980. 80 б.
- 3 Федорченко И.А., Мосин В.А. Тары – мол өнімді дақыл. – 1981. – 50 б.

4 Кужантаева Ж.Ж., Ташенова А.М. Грибы хранения на семенах ячменя и кукурузы // Известия НАН РК. Сер. биол. и мед. – 2006. – № 5. – 44-49-66.

5 Ardak Muratovna Bostanova, Zaida Sagadildaevna Azhibayeva, Gani Isauli Isayev, Almagul Klimovna. Mycobiota of Seeds in Granaries of South Kazakhstan // Life Science Journal. – 2014; 11(1s).

REFERENCES

- 1 Koishybaev M. Illnesses of millet. – Almaty: Kainar, 1975. – P. 120.
- 2 Myrzamadiyeva M.A. Millet. – Almaty: Kainar, 1980. – P. 80.
3. Fedorchenko I.A., Mosin V.A. Millet – prolific culture. – 1981. – P. 50.
- 4 Kuzhantayeva Zh.Zh., Tashenova A.M. Mushrooms of a storage on seed of barley and corn // News NAN RK. A series. biol.end med. – 2006. – № 5. – P. 44-49.
- 5 Bostanova A.M., Azhibayeva Z.S., Isayev G.I. Mycobiota of Seeds in Granaries of South Kazakhstan // Life Science Journal. – 2014; 11(1s).

Резюме

Ж. Т. Абдрасулова, Ж. Ж. Кужантаева

(Казахский государственный женский педагогический университет, Алматы, Казахстан)

МИКРОМИЦЕТЫ, ПОРАЖАЮЩИЕ СЕМЕНА ПРОСА И КУКУРУЗЫ

В статье представлены результаты исследования, особенности поражаемости семян проса и кукурузы микромицетами. Объекты исследования были взяты из зернохранилищ района Шиели Кызылординской области и района Карой Алматинской области, исследовались биологическим методом В. И. Семенова.

Ключевые слова: *Panicum miliaceum* L., *Zea Mays* L., *Sphacelotheca panici- miliacei* (Pers.) Bubak, *Ustilago zeae* Beckm., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Macrosporium commune* Wall., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium glaucum* Link, *P.panici* Elliot., *P.holsi* Kendrick.

Summary

Zh. Abdrassulova, Zh. Kuzhantayeva

(Kazakh state women's pedagogical university, Almaty, Kazakhstan)

MICROMYCETES AFFECTING SEEDS OF MILLET AND MAIZE

The article presents the results of research, peculiarities of affection of millet seeds and corn by micromicetes. Objects of study were taken from the silos of the Shieli area, the Kyzylorda oblast and the Karoy district, Almaty oblast, were studied with biological methods of V. I. Semenov.

Keywords: *Panicum miliaceum* L., *Zea Mays* L., *Sphacelotheca panici- miliacei* (Pers.) Bubak, *Ustilago zeae* Beckm., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Macrosporium commune* Wall., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* Tiegh., *Penicillium glaucum* Link, *P.panici* Elliot., *P.holsi* Kendrick.

Поступила 10.09.2014 г.

М. Б. АМАНБАЕВА¹, П. А. ЕСЕНБЕКОВА²

¹Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан,

²(ҚР БЖҒМ Зоология институты, Алматы, Қазақстан.

E-mail: 1. mahabat_82@mail.ru, 2. esenbekova_periz@mail.ru)

«АЛТЫН-ЕМЕЛ» МЕМЛЕКЕТТІК ҰЛТТЫҚ ТАБИҒИ ПАРКІНІҢ ЖАРТЫЛАЙ ҚАТТЫҚАНАТТЫЛАРЫ (HEMITEPTERA) ФАУНАСЫ

Аннотация. Зерттеу нәтижесінде «Алтын-емел» мемлекеттік ұлттық табиғи паркінің (Шыған кардонының маңы, Өншікұм, Кіші және Үлкен Қалқан) жартылай қаттықанаттылардың 9 тұқымдасына жататын 26 түр анықталды. Олардың ішінде Nabidae, Nepidae, Gerridae – зоофагтар, Miridae тұқымдастары (*Deraeocoris punctulatus*, *Phytocoris varipes*) – зоофитофагтар, қалған тұқымдас өкілдер – фитофагтар.

Тірек сөздер: Алтын-Емел, жартылай қаттықанаттылар, зоофагтар, фитофагтар.

Ключевые слова: Алтын-Эмель, полужесткокрылые, зоофаги, фитофаги.

Keywords: Altyn-Emel, Hemiptera, zoophages, phytophagous.

«Алтын-емел» мемлекеттік ұлттық табиғи бағы 1996 жылы 10 сәуірде Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен құрылған. Қазіргі кезде ол еліміздегі ең ірі ұлттық табиғи паркінің бірі болып саналады. Оның аумағы 520 мың гектардан астам. Іле шұңқырында орналасқан, солтүстігінде Жетісу Алатауының оңтүстік бөктері шектеп жатса, оңтүстігінде Іле өзені мен Қапшағай су қоймасы алып жатыр. Парк Алматы облысы, Панфилов, Кербұлақ аудандарының аумағында ұйымдастырылған, солтүстік шекарасы Алтын-емел тауының оңтүстік-батыс тармақтарынан өтеді.

«Алтын-емел» ұлттық бағы аумағының жартылай қаттықанаттыларының фаунасы, биологиясы, экологиясы толық зерттеліп бітпеген [1–5].

Құрлық қандалаларын ұстау үшін ең белгілі әдісі: сүзгіменен «ору» және эксгаустермен жинау, т.б. қолданылды. Су жартылай қаттықанаттыларын су энтомологиялық сүзгісі көмегімен жиналды.

Зерттеу жұмысы «Алтын-емел» мемлекеттік ұлттық табиғи паркінде 2014 жылдың маусым айындағы жинаған материалдар негізінде (Шыған кардонының маңы, Өншікұм, Кіші және Үлкен Қалқан) жартылай қаттықанаттылардың түрлер тізімі берілген.

Miridae тұқымдасы

Deraeocoris (C.) punctulatus (Fallen, 1807. Шыған кардонының маңы, 08.07.2006. 5 экз.; Мыңбұлақ кардоны, 15.06.2014. Далалы аймақта және шөптесінді өсімдікте. Зоофитофаг.

Polymerus unifasciatus Fabricius. Шыған кардонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; кордон Мыңбұлақ, 13.06.2014. 4 экз. Көпқоректі.

Lygus pratensis (Linnaeus), 1758. Шыған кардонының маңы, 12.06.2014. 4 экз.; Кіші және Үлкен Қалқан таулары. 13.06.2014. 4 экз.; Мыңбұлақ кардоны, 14.06.2014. 3 экз. Эврибионт. Көпқоректі.

Orthops kalmi (Linnaeus, 1758). Шыған кардонының маңы, 12.06.2014. 4 экз.; Мыңбұлақ кардоны, 15.06.2014. 3 экз., шатыргүлділерде.

Dimorphocoris pedetes Kerzhner, 1964. Кіші және Үлкен Қалқан таулары. 14.06.2014. 2 экз. Бұршақ тұқымдастарында.

Phytocoris varipes Boheman, 1852. Шыған кардонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; Мыңбұлақ кардоны, 14.06.2014. 2 экз. Зоофитофаг. Түрлі шөптесінді биотоптарда.

Tironia elegans (Jakovlev, 1867). Өншікұм, 15.06.2014. 10 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

Tironia roseipennis Reuter, 1878. Өншікұм, 14.06.2014. 6 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

Tironia suturalis suturalis Reuter, 1901. Шыған кардонының маңы, 12.06.2014. 3 экз. Кермек өсімдігінде (*Limonium*).

Tironia prasina (Fieber, 1864). Өншікұм, 14.06.2014. 5 экз.; 15.06.2014. 6 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

Nabidae тұқымдасы

Nabis (Aspilaspis) viridulus Spinola, 1837. Шыған кардонының маңы, интразональды биотоп, 13.06.2014. 5 экз.; Өншікұм, 14.06.2014. 3 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

Nabis ferus (Linnaeus, 1758). Окр. Шыған кордонының маңы, интразональды биотоп, 13.06.2014. 2 экз.; Кіші және Үлкен Қалқан таулары, 14.06.2014. 3 экз.

Lygaeidae тұқымдасы

Artheneis alutacea Fieber, 1861. Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 6 экз.; Әншікүм, 13.06.2014. 5 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

Rhopalidae тұқымдасы

Stictopleurus punctatonervosus (Goeze, 1778). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 2 экз. Күрделігүлділерде.

Corizus hyoscyami hyoscyami (Linnaeus, 1758). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; Әншікүм, 14.06.2014. 3 экз.; Кіші және Үлкен Қалқан таулары. 14.06.2014. 2 экз. Шөптесін өсімдіктерде.

Coreidae тұқымдасы

Gonocerus acuteangulatus (Goeze, 1778). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 12 экз. Бұтақты өсімдіктерде.

Coreus marginatus (Linnaeus, 1758). Шыған кордонының маңы, 12.06. 2014. 3 экз. Шөптесін өсімдіктерде.

Tingidae тұқымдасы

Derephysia foliacea (Fallén, 1807). Шыған кордонының маңы, 12.06. 2014. 10 экз. Күрделігүлділерде личинкалар және имаго.

Pentatomidae тұқымдасы

Desertomenida quadrimaculata (Horvath, 1892). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; Әншікүм, 13.06.2014. 4 экз. Тамариск өсімдігінде (*Tamarix*).

«Алтын-Емел» МҰТП жартылай қаттықанаттыларының токсонимиялық құрамы

Тұқымдасы	Туыс	Түр	Қоректену ерекшеліктері	Түр саны	%
Miridae	<i>Deraeocoris</i>	<i>D. punctulatus</i>	Зоофитофаг	10	38,6
	<i>Polymerus</i>	<i>P.unifasciatus</i>	Фитофаг		
	<i>Lygus</i>	<i>L. pratensis</i>	Фитофаг		
	<i>Orthops</i>	<i>O. kalmi</i>	Фитофаг		
	<i>Dimorphocoris</i>	<i>D.pedetes</i>	Фитофаг		
	<i>Phytocoris</i>	<i>P. varipes</i>	Зоофитофаг		
	<i>Tuponia</i>	<i>T. elegans</i>	Фитофаг		
		<i>T. roseipennis</i>	Фитофаг		
		<i>T. suturalis suturalis</i>	Фитофаг		
		<i>T. prasina</i>	Фитофаг		
Nabidae	<i>Nabis</i>	<i>N.viridulus</i>	Зоофаг	2	7,7
		<i>N. ferus</i>	Зоофаг		
Lygaeidae	<i>Artheneis</i>	<i>A. alutacea</i>	Фитофаг	1	3,8
Rhopalidae	<i>Stictopleurus</i>	<i>S. punctatonervosus</i>	Фитофаг	1	3,
Coreidae	<i>Corizus</i>	<i>C.hyoscyami</i>	Фитофаг	3	11,6
	<i>Gonocerus</i>	<i>G.acuteangulatus</i>	Фитофаг		
	<i>Coreus</i>	<i>C. marginatus</i>	Фитофаг		
Tingidae	<i>Derephysia</i>	<i>D. foliacea</i>	Фитофаг	1	3,8
Pentatomidae	<i>Desertomenida</i>	<i>D.quadrimaculata</i>	Фитофаг	6	23,1
	<i>Brachynema</i>	<i>B. germari</i>	Фитофаг		
	<i>Anthemina</i>	<i>A. lunulata</i>	Фитофаг		
	<i>Carpocoris</i>	<i>C. pudicus</i>	Фитофаг		
		<i>C.purpureipennis</i>	Фитофаг		
	<i>Tarisa</i>	<i>T. elevata</i>	Фитофаг		
Nepidae	<i>Nepa</i>	<i>N. cinerea</i>	Зоофаг	1	3,8
Gerridae	<i>Gerris</i>	<i>G. lacustris</i>	Зоофаг	1	3,8
9	21	26		26	100

Brachynema germari (Kolenati, 1846). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 2 экз.; Әншікүм, 13.06.2014. 2 экз. Имаго және личинки.

Anthemina lunulata (Goeze, 1778). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; Кіші және Үлкен Қалқан таулары. 14.06.2014. 2 экз. Полифитофаг.

Carpocoris pudicus (Poda, 1761). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз. личинкалар.

Carpocoris purpureipennis (De Geer, 1773). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.; Әншікүм, 13.06.2014. 10 экз. личинкалар.

Tarisa elevata Reuter, 1901. Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз.

Nepidae тұқымдасы

Nepa cinerea Linnaeus, 1758. Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 3 экз. Баяу ағысты суда личинкалары кездесті.

Gerridae тұқымдасы

Gerris lacustris (Linnaeus, 1758). Шыған кордонының маңы, 12.06.2014. 4 экз.

Анықталған тұқымдастарының өкілдері Nabidae, Nepidae, Gerridae – зоофагтар, Miridae тұқымдастары (*Deraeocoris punctulatus*, *Phytocoris varipes*) – зоофитофагтар, қалған тұқымдастар – фитофагтар (кесте).

Зерттеу нәтижесінде «Алтын-Емел» мемлекеттік ұлттық табиғи паркінің 2014 жылдың маусым айындағы жинаған материалдардан (Шыған кордонының маңы, Әншікүм, Кіші және Үлкен Қалқан) жартылай қаттықанаттылардың 9 тұқымдасына жататын 26 түр анықталды.

ӘДЕБИЕТ

1 Есенбекова П.А. Водные полужесткокрылые (Heteroptera) Государственного национального природного парка «Алтын-Эмель» // Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед. – Алматы, 2006. – № 6. – С. 9-11.

2 Есенбекова П.А. Весенние виды полужесткокрылых (Heteroptera) горы Шолак // Вестн. КазНУ. Сер. биол. – Алматы, 2007. – № 3 (33). – С. 76-78.

3 Есенбекова П.А. К фауне наземных полужесткокрылых (Heteroptera) ГНПП «Алтын-Эмель» // Исследования, результаты. – Алматы, 2008а. – № 1. – С. 180-182.

4 Есенбекова П.А. К фауне наземных полужесткокрылых (Heteroptera) ГНПП «Алтын-Эмель» // Исследования, результаты. – Алматы, 2008б. – № 1. – С. 180-182.

5 Есенбекова П.А., Акоев М.Т. Алтын-Емел табиғи бағының жартылай қаттықанаттылар фаунасына (Heteroptera) // Вестн. КазНУ. Сер. биол. – Алматы, 2010. – № 1. – С. 89-91.

REFERENCES

1 Esenbekova P.A. Vodnye poluzhestkokrylye (Heteroptera) Gosudarstvennogo nacional'nogo prirodnogo parka «Altyn-Jemel'». Izv. NAN RK. Ser. biol. i med. Almaty, 2006. № 6. S. 9-11.

2 Esenbekova P.A. Vesennie vidy poluzhestkokrylyh (Heteroptera) gory Sholak. Vestn. KazNU. Ser. biol. Almaty, 2007. № 3 (33). S. 76-78.

3 Esenbekova P.A. K faune nazemnyh poluzhestkokrylyh (Heteroptera) GNPP «Altyn-Jemel'». Issledovaniya, rezul'taty. – Almaty, 2008a. № 1. S. 180-182.

4 Esenbekova P.A. K faune nazemnyh poluzhestkokrylyh (Heteroptera) GNPP «Altyn-Jemel'». Issledovaniya, rezul'taty. Almaty, 2008b. № 1. S. 180-182.

5 Esenbekova P.A., Akoev M.T. Altyn-Emel tabigi baғynuң zhartylaj kattykanattylyar faunasyna (Heteroptera). Vestn. KazNU. Ser. biol. Almaty, 2010. № 1. S. 89-91.

Резюме

М. Б. Аманбаева¹, П. А. Есенбекова²

¹Казахский национальный педагогический университет им. Абая, Алматы, Казахстан,

²Институт зоологии МОН РК, Алматы, Казахстан)

МАТЕРИАЛЫ К ФАУНЕ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫХ (HETEROPTERA) ГОСУДАРСТВЕННОГО НАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКА «АЛТЫН-ЭМЕЛЬ»

В результате проведенных исследований в июне 2014 г. на территории ГНПП «Алтын-Эмель» (окр. кордона Шыган, Поющий бархан, горы М. и Б. Калканы) было выявлено из 9 семейств 26 видов полужесткокрылых насекомых. Представители семейств Nabidae, Nepidae, Gerridae – зоофаги, виды семейства Miridae (*Deraeocoris punctulatus*, *Phytocoris varipes*) – зоофитофаги, а представители остальных семейств – фитофаги.

Ключевые слова: Алтын-Эмель, полужесткокрылые, зоофаги, фитофаги.

Summary

M. B. Amanbaeva¹, P. A. Esenbekova²

¹Abay kazakh national pedagogical university, Almaty, Kazakhstan,

²Institute of zoology of the MES of the RK, Almaty, Kazakhstan)

MATERIALS TO THE FAUNA OF HEMIPTERA (HETEROPTERA) OF
STATE NATIONAL PARK «ALTYN-EMEL»

The investigations in June 2014 on the territory of State National Park «Altyn-Emel» (cordon Shygan, Singing Dunes, mountains M. and B. Kalkany) identified 26 families of 9 species of Hemiptera insects. Representatives of Nabidae, Nepidae, Gerridae families – zoophages, species of Miridae family (*Deraeocoris punctulatus*, *Phytocoris varipes*) – zoophytophages, and representatives of other families – phytophagous.

Keywords: Altyn-Emel, Hemiptera, zoophages, phytophagous.

Поступила 10.09.2014 г.

УДК 579.66:631.895:631.423.4:631.427.22

*Д.Т. ИДРИСОВА, Н.С. МУХАМЕДОВА, Б.К. ЖУСУПОВА,
Ж.Ш. ЖУМАДИЛОВА, Е.Ж. ШОРАБАЕВ*

(Филиал «Прикладная микробиология» Института микробиологии и вирусологии, Кызылорда, Казахстан)

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА ЗАГРЯЗНЕННУЮ НЕФТЬЮ ПОЧВУ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Аннотация. Изучено содержание нефти в нефтезагрязненной почве месторождения Акшабулак Кызылординской области Республики Казахстан. Исследовано влияние органоминеральных удобрений на скорость деструкции нефти в почве. Наибольший процент деструкции нефти наблюдается в варианте с внесением органоминеральных удобрений ОМУ (навоз – 2,25 кг и птичий помет – 0,25 кг, нитроаммофоска 10 г и карбамид – 5 г) на 1 м² и составляет 52,9 г/кг. Процесс деструкции нефти в почве контролировали гравиметрическим методом. Выявлено, что проведение агротехнических мероприятий также способствует снижению нефти в почве. Применение органических удобрений позволяет восполнить дефицит органического вещества в почве, улучшить агрофизические свойства, активизировать деятельность почвенных микроорганизмов. Найдено, что численность основных групп почвенных микроорганизмов возрастает на 1-2 порядка, а ферментативная активность почвы увеличивается по сравнению с контрольным участком.

Ключевые слова: нефть, биоремедиация, нефтяное загрязнение, почва, органоминеральные удобрения, гравиметрия, ферменты, микроорганизмы.

Тірек сөздер: мұнай, биоремедиация, мұнаймен ластану, топырақ, органоминералды тыңайтқыштар, гравиметрия, ферменттер, микроағзалар.

Keywords: oil, bioremediation, oil-polluted, soil, organic-mineral fertilizers, gravimetric, enzymes, microorganism.

В районах с развитой нефтедобывающей промышленностью наиболее распространенным загрязнителем окружающей среды являются нефть и продукты ее переработки, которые попадают в почву в процессе добычи, транспортировки и хранения. В результате нефтезагрязнения почв нарушается экологическое состояние и изменяется структура биоценозов. В связи с этим разработка способов очистки нефтезагрязненных почв – одна из важнейших задач при решении проблемы антропогенного воздействия на окружающую среду [1].

В настоящее время охране почв от техногенных загрязнений уделяется значительно меньше внимания, чем охране воды и атмосферы. Одной из причин сложившегося положения является то обстоятельство, что почва обладает мощной самоочищающей способностью. Вместе с тем способность к самоочищению имеет свои границы. В условиях внешней среды процессы самоочищения

почвы протекают крайне медленно и нуждаются в стимуляции. Так как углеводородокисляющие микроорганизмы являются постоянными компонентами почвенных биоценозов, естественно, возникает стремление использовать их катаболическую активность для восстановления нефтезагрязненных почв путем внесения в загрязненный грунт препаратов на основе гуминовых кислот торфа [2].

Целью настоящей работы является изучение численности основных групп почвенных микроорганизмов, ферментативной активности нефтезагрязненной почвы до и после внесения органоминеральных удобрений и применение агротехнических мероприятий на нефтезагрязненную почву месторождения «Акшабулак» Кызылординской области.

Материалы и методы исследования

Мелко-деляночные опыты проводились на полигоне ТОО «К-Курылыс» Кызылординской области. Объектами исследований являются почвы, искусственно загрязненные нефтью месторождения «Акшабулак». В контрольном варианте использовали загрязненную почву (без внесения удобрений). Ферментативную активность почв определяли методами почвенной энзимологии [3]. Содержание нефти в почве определяли общепринятым гравиметрическим методом [4]. Исходное содержание нефти определяли в аккредитованной лаборатории Центра физико-химических методов исследования и анализа Казахского национального университета им. аль-Фараби.

Результаты и их обсуждение

Длительность полевого эксперимента составила 2 месяца, в течение которых контролировали деструкцию нефти в почве, липазную и дегидрогеназную активность, также изменение численности основных групп почвенных микроорганизмов.

На нефтезагрязненную почву были внесены в качестве органических удобрений – ОУ (навоз – 2,25 кг и птичий помет – 0,25 кг) на 1 м² и минеральных удобрений – МУ (нитроаммофоска – 10 г и карбамид – 5 г), органоминеральное удобрение – ОМУ (навоз – 2,25 кг, птичий помет – 0,25 кг, нитроаммофоска – 10 г и карбамид – 5 г) на 1 м². Обработка почвы, а также внесение минеральных удобрений оказывает сильное влияние на микрофлору почвы. Внесение минеральных удобрений, особенно содержащих азот, влечет к существенным изменениям в составе некоторых групп микроорганизмов. В навозе имеются много термофилов, и унавоженные почвы обогащаются этой группой микроорганизмов. Навоз, богатый органическими веществами, стимулирует размножения ряда микроорганизмов, в том числе *Azotobacter* [5].

Нитроаммофоска относится к комплексным, и, по сути, является универсальным, так как содержит три питательных элемента – азот, фосфор и калий с массовой долей 48-51% (самый распространенный вид удобрения, где N, P, K содержатся приблизительно в равных долях). Нитроаммофоска является важным составляющим компонентом, используемым при очистке почв от нефтяных загрязнений [6]. Карбамид – концентрированное удобрение, содержащее 45-46% водорастворимого азота. Его гидролиз основан на превращении органических соединений азота в карбонат аммония, представляющий собой нейтральное соединение, разлагающееся на аммиак, двуокись углерода и воду. Скорость этого процесса зависит от факторов, тесно связанных с развитием и активностью почвенных микроорганизмов: температуры, влаги, значения pH, содержания органического вещества и т. д. При оптимальных условиях в почве гидролиз карбамида протекает быстро – за 1-4 дня, однако ослабевает при низкой температуре (4°C), что обусловлено снижением численности микроорганизмов, участвующих в этом процессе [7].

Исходное содержание нефти в почве полигона составляло 52,9 г/кг. Результаты численного состава основных групп микроорганизмов до внесения органоминеральных удобрений представлены в таблице 1.

До внесения удобрений выявлено, что численность ОМЧ составляет $6,4 \pm 1,1 \cdot 10^6$ КОЕ/г, численность спорообразующих бактерий $8,1 \pm 1,1 \cdot 10^4$ КОЕ/г, количество акциномицетов обнаружены единицы, численность мицелиальных грибов и углеводородокисляющих микроорганизмов в почве составляет $4,0 \pm 1,2 \cdot 10^3$ и $2,1 \pm 0,9 \cdot 10^3$ КОЕ/г почвы, соответственно. Результаты исследований численных групп основных микроорганизмов после внесения органоминеральных удобрений представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Численный состав основных групп микроорганизмов в нефтезагрязненной почве месторождения «Акшабулак» (до внесения органоминеральных удобрений)

Наименование проб	Численность микроорганизмов, КОЕ /г почвы				
	ОМЧ	Спорообразующие микроорганизмы	Актиномицеты	Мицелиальные грибы	УОМ
Загрязненная почва	$6,4 \pm 1,1 \cdot 10^6$	$8,1 \pm 2,1 \cdot 10^4$	Единицы	$4,0 \pm 1,2 \cdot 10^3$	$2,1 \pm 0,9 \cdot 10^3$

Таблица 2 – Численность основных групп почвенных микроорганизмов загрязненной нефтью почв месторождения «Акшабулак» после внесения органоминеральных удобрений

Варианты опыта	Численность микроорганизмов, КОЕ /г почвы				
	ОМЧ	Спорообразующие микроорганизмы	Мицелиальные грибы	Актиномицеты	УОМ
1 месяц					
Контроль загрязненная почва	$3,6 \pm 0,2 \cdot 10^6$	$1,6 \pm 0,2 \cdot 10^4$	$1,1 \pm 0,1 \cdot 10^3$	$1,8 \pm 0,6 \cdot 10^3$	$2,1 \pm 0,4 \cdot 10^4$
Загр. почва + орг. удобрение	$3,0 \pm 0,7 \cdot 10^6$	$2,3 \pm 1,1 \cdot 10^4$	$2,0 \pm 0,6 \cdot 10^3$	Не выявлены	$1,7 \pm 0,7 \cdot 10^5$
Загр. почва + мин. удобрение	$5,9 \pm 1,0 \cdot 10^5$	$3,8 \pm 1,6 \cdot 10^3$	$0,5 \pm 0,3 \cdot 10^3$	Не выявлены	$3,9 \pm 1,0 \cdot 10^5$
Загр. почва + органоминеральные удобрения	$8,7 \pm 1,3 \cdot 10^6$	$5,1 \pm 1,7 \cdot 10^4$	$4,7 \pm 0,9 \cdot 10^4$	Не выявлены	$8,7 \pm 1,3 \cdot 10^6$
2 месяц					
Контроль загрязненная почва	$1,6 \pm 0,8 \cdot 10^6$	$3,1 \pm 0,8 \cdot 10^4$	$1,1 \pm 0,5 \cdot 10^3$	Не выявлены	$3,3 \pm 1,3 \cdot 10^4$
Загр. почва + орг. удобрение	$6,8 \pm 0,3 \cdot 10^6$	$2,1 \pm 0,2 \cdot 10^5$	$9,2 \pm 1,4 \cdot 10^3$	Не выявлены	$2,4 \pm 1,1 \cdot 10^6$
Загр. почва + мин. удобрение	$6,1 \pm 0,3 \cdot 10^5$	$1,2 \pm 0,5 \cdot 10^4$	$1,1 \pm 0,5 \cdot 10^4$	Не выявлены	$3,7 \pm 1,2 \cdot 10^5$
Загр. почва + органоминеральные удобрения	$3,2 \pm 0,2 \cdot 10^7$	$1,3 \pm 0,1 \cdot 10^6$	$1,5 \pm 0,5 \cdot 10^4$	Не выявлены	$6,7 \pm 1,6 \cdot 10^6$

Из таблицы 2 видно, что после 1 месяца полевого эксперимента общая микробная численность в контрольном варианте без добавления удобрений дали одинаковые результаты с вариантами при внесении органических и минеральных удобрений – $3,6 \pm 0,2 \cdot 10^6$, $3,0 \pm 0,7 \cdot 10^6$, $8,7 \pm 1,3 \cdot 10^6$ КОЕ/г, при добавлении минеральных удобрений снизилось на 1 порядок $5,9 \pm 1,0 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

Численность спорообразующих микроорганизмов на 1 порядок выше, чем в варианте с внесением минерального удобрения и составляет $3,8 \pm 1,0 \cdot 10^3$ КОЕ/г, в загрязненной почве равна – $1,6 \pm 0,2 \cdot 10^4$ КОЕ/г, в варианте с добавлением органических удобрений – $2,3 \pm 0,7 \cdot 10^4$ КОЕ/г и с органоминеральным удобрением $5,1 \pm 1,3 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

Количество мицелиальных грибов в варианте опыта без добавления удобрений, с органическими и минеральными удобрениями показывают одинаковые результаты – $1,1 \pm 0,1 \cdot 10^3$, $2,0 \pm 0,6 \cdot 10^3$, $0,5 \pm 0,3 \cdot 10^3$ КОЕ/г. В варианте при внесении органоминеральных удобрений численность грибов увеличилось на 1 порядок и составляет $4,7 \pm 0,9 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

Только в контрольном варианте численность актиномицетов составляет $1,8 \pm 0,6 \cdot 10^3$ КОЕ/г, тогда как в остальных вариантах рост не обнаружен.

Наибольшее количество численности УОМ наблюдается в варианте с органоминеральным удобрением – $8,7 \pm 1,3 \cdot 10^6$ КОЕ/г на 2 порядка выше по сравнению с контрольным вариантом, в вариантах с органическим и минеральным удобрением показывают одинаковые количество $1,7 \pm 0,7 \cdot 10^5$ и $3,9 \pm 1,0 \cdot 10^5$ КОЕ/г, 1 порядок по сравнению с контрольным вариантом.

После 2 месяцев проведенного опыта во всех вариантах численность микроорганизмов значительно увеличивается по сравнению 1 месяца эксперимента. Наибольшая численность ОМЧ выявлена, в варианте с органоминеральными удобрениями – $3,2 \pm 0,2 \cdot 10^7$ КОЕ/г, а в остальных вариантах наблюдается ниже на 1 порядок $1,6 \pm 0,8 \cdot 10^6$, $6,8 \pm 0,3 \cdot 10^6$ КОЕ/г, тогда как в варианте с добавлением минеральных удобрений составляет $6,1 \pm 0,3 \cdot 10^5$ КОЕ/г.

Увеличение численности спорообразующих микроорганизмов наблюдается в варианте с внесением органоминеральных удобрений $1,3 \pm 0,1 \cdot 10^6$ КОЕ/г, а в варианте при внесении органических удобрений показывает $2,1 \pm 0,2 \cdot 10^5$ КОЕ/г, тогда как в остальных двух вариантах в контроле и при добавлении минеральных удобрений ниже на 1 порядок $3,1 \pm 0,8 \cdot 10^4$, $1,2 \pm 0,5 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

Количество мицелиальных грибов в двух вариантах (в контрольном и при добавлении органических удобрения) показывают одинаковые результаты $1,1 \pm 0,5 \cdot 10^4$ и $9,2 \pm 1,4 \cdot 10^3$ КОЕ/г, а в вариантах с внесением минеральных и органоминеральных удобрений выше на один порядок, составляет $1,1 \pm 0,5 \cdot 10^4$ КОЕ/г и $1,5 \pm 0,5 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

В опытных делянках численность актиномицетов после 2 месяцев также не обнаружено, за исключением контрольной почвы.

Наблюдается увеличение численности УОМ в варианте с добавлением органоминеральных удобрений $6,7 \pm 1,6 \cdot 10^6$ КОЕ/г, тогда как в варианте с органическими удобрениями выявлено $2,4 \pm 1,1 \cdot 10^6$ КОЕ/г, а при внесении минеральных удобрений на 1 порядок снижается – $3,7 \pm 1,2 \cdot 10^5$ КОЕ/г, тогда как в контрольной пробе составляет всего $3,3 \pm 1,3 \cdot 10^4$ КОЕ/г.

После 1 месяца при проведении агротехнических мероприятий в контроле на незагрязненном участке деструкция нефти составляет от 9,4%, после 2 месяцев степень утилизации нефти составляет всего 12,6%.

В варианте с внесением органических и минеральных удобрений содержание нефти снижается от 14,3 до 16,6%, в этих участках после 2 месяцев содержание нефти уменьшилось от 21,5 до 28,7% соответственно. Наибольший показатель деструкции отмечен на участке с внесением органоминеральных удобрений после 1 месяца – 24,0%, тогда как по истечении 2 месяцев деструкция нефти составляет – 42,5%. Данное явление, возможно, связано, с внесением совместно минеральных и органических удобрений, а также с проведением агротехнических мероприятий, которые улучшили аэрацию загрязненных почв нефтью.

Как известно, активность ферментов является чутким индикатором уровня загрязненности почв. Ферментативная активность почв это один из показателей биологической активности почвы, характеризующий потенциальную способность экосистемы сохранять гомеостаз. Результаты проведенного анализа по ферментативной активности почвы представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Ферментный анализ полевого эксперимента

Варианты опыта	Липаза, Мл/0,1 н		Дегидрогеназа, мг ТФФ/г/сут	
	1 месяца	2 месяцев	1 месяца	2 месяцев
Контроль загрязненная почва	2,2	3,1	2,0	1,7
Загр. почва + орг. удобрение	4,8	7,5	3,8	1,7
Загр. почва + мин. удобрение	2,8	4,3	3,0	2,4
Загр. почва + органоминеральные удобрения	4,8	7,6	3,6	1,1

Как видно из таблицы 3, что при внесении органических и органоминеральных удобрений наблюдаются высокие значения липазной активности почвы – 7,5-7,6 мл/0,1 н соответственно, тогда как в экспериментальном участке при внесении минеральных удобрений значение липазной активности составляет 4,3 мл/0,1 н. Высокий показатель дегидрогеназной активности наблюдается в вариантах при внесении минеральных и органоминеральных удобрений.

Выводы. Таким образом, проведенные полевые исследования позволяют заключить, что внесение органоминеральных удобрений позволяет значительно ускорить деструкцию нефти в засоленных нефтезагрязненных почвах Кызылординской области. Через два месяца содержание нефти в контроле снизилось на 12,6%. Наибольший показатель деструкции нефти отмечается на делянке с внесением органоминеральных удобрений (42,5%). По результатам проведенных исследований можно утверждать, что органоминеральные удобрения стимулируют почвенную микрофлору при рекультивации нефтезагрязненных земель. Применение органических удобрений позволяет восполнить дефицит органического вещества в почве, улучшить агрофизические свойства, активизировать деятельность почвенных микроорганизмов. Обработка почвы органоминеральным удобрением стимулирует аборигенную нефтеокисляющую микрофлору. Обеспеченность почв

биогенными элементами: азотом, фосфором и калием – важный фактор, определяющий интенсивность разложения нефти и нефтепродуктов.

Численность основных групп почвенных микроорганизмов возрастает на 1-2 порядка, а ферментативная активность почвы увеличивается по сравнению с контрольным участком.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Микробиологическая и ферментативная активность почв и грунтов при рекультивации нефтезагрязненных территорий. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.dslib.net> (дата обращения: 21.08.14).
- 2 Биологическая рекультивация почв, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами с помощью гуминовых препаратов. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://kulibin.org> (дата обращения: 21.08.14).
- 3 Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
- 4 РД 52.18.647-2003. Методические указания. Определение массовой доли нефтепродуктов в почвах. Методика выполнения измерений гравиметрическим методом.
- 5 Мишустин Е.Е. Ассоциации почвенных микроорганизмов. – М.: Наука, 1975. – 109 с.
- 6 Нитроаммофоска. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://xn--7sbavmrewsq2j.xn--p1ai/index.php/2-uncategorised/48-nitroammofoska> (дата обращения: 22.08.14).
- 7 Участие микрофлоры в минерализации карбамида. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.activestudy.info/uchastie-mikroflory-v-mineralizacii-karbamida/> (дата обращения: 22.08.14).

REFERENCES

- 1 Mikrobiologicheskaja i fermentativnaja aktivnost' pochv i gruntov pri rekul'tivacii neftezagryzennyh territorij. [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.dslib.net> (data obrashhenija: 21.08.14).
- 2 Biologicheskaja rekul'tivacija pochv, zagryzajonnyh neft'ju i nefteproduktami s pomoshh'ju guminovyh preparatov. [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://kulibin.org> (data obrashhenija: 21.08.14).
- 3 Haziev F.H. Metody pochvennoj jenzimologii. M.: Nauka, **2005**. 252 s.
- 4 RD 52.18.647-2003. Metodicheskie ukazanija. Opredelenie massovoj doli nefteproduktov v pochvah. Metodika vypolnenija izmerenij gravimetricheskim metodom.
- 5 Mishustin E.E. Assotsiatsii pochvennykh mikroorganizmov. M.: Nauka, **1975**. 109 s.
- 6 Nitroammofoska. [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://xn--7sbavmrewsq2j.xn--p1ai/index.php/2-uncategorised/48-nitroammofoska> (data obrashcheniia: 22.08.14).
- 7 Uchastie mikroflory v mineralizatsii karbamida. [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://www.activestudy.info/uchastie-mikroflory-v-mineralizacii-karbamida/> (data obrashcheniia: 22.08.14).

Резюме

Д. Т. Ыдрысова, Н. С. Мұхамедова, Б. К. Жүсіпова, Ж. Ш. Жұмаділова, Е. Ж. Шорабаев

(Микробиология және вирусология институтының «Қолданбалы микробиология» филиалы, Қызылорда, Қазақстан)

ДАЛА ЖАҒДАЙЫНДА МҰНАЙМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚА ОРГАНОМИНЕРАЛДЫ ТЫҢАЙТҚЫШТАРДЫҢ ӘСЕРІН БАҒАЛАУ

Қазақстан Республикасының Қызылорда облысындағы Ақшабұлақ кенішінің мұнаймен ластанған топырағындағы мұнайдың мөлшері анықталды. Топырақ құрамындағы мұнай деструкциясының жылдамдығына органоминералды тыңайтқыштардың әсері зерттелді. Мұнай деструкциясының жоғары пайызы ОМТ органоминералды тыңайтқыштарын (көң – 2,25 кг, құс қаңсырығы – 0,25 кг, нитроаммофоска – 10 г және карбамид – 5 г) 1 м²-ге енгізгенде байқалды және 52,9 г/кг құрады. Топырақтағы мұнайдың деструкция үрдісі гравиметриялық әдіспен бақыланды. Агротехникалық іс-шаралар топырақтағы мұнайдың мөлшерін азайтатындығы табылды. Органикалық тыңайтқыштарды пайдалану топырақтағы органикалық заттарды толықтыруға мүмкіндік береді, агрофизикалық қасиеттерін жақсартады, топырақтағы микроағзалардың қызметін белсендіреді. Топырақ микроағзалар санының негізгі топтары 1-2 ретке жоғарылайтындығы және ферментативтік белсенділігі бақылау учаскесімен салыстырғанда артатындығы анықталды.

Тірек сөздер: мұнай, биоремедиация, мұнаймен ластану, топырақ, органоминералды тыңайтқыштар, гравиметрия, ферменттер, микроағзалар.

Summary

D. T. Idrisova, N. S. Muhamedova, B. K. Zhusupova, Zh. Sh. Zhumadilova, E. Zh. Shorabaev

(Branch «Applied microbiology» of Institute of Microbiology and Virology, Kyzylorda, Kazakhstan)

ASSESSMENT OF ORGANIC FERTILIZERS' INFLUENCE ON OILED SOIL IN FIELDS

The content of oil in the oil-polluted soil in Akshabulak, the Kyzylorda region of Kazakhstan was studied. The influence of organic fertilizers on the rate of oil degradation in was soil researched. The highest percentage of oil degradation is observed in the variant with the introduction of organic fertilizers OMF (manure – 2.25 kg and bird droppings – 0.25 kg NPK – 10 g and urea – 5 g) per 1 m² and is amount of 52.9 g/kg. The process of oil degradation in soil was monitored by gravimetric method. It was revealed that the holding of agricultural activities also helps to reduce oil in soil. The use of organic fertilizers allows to make up the deficit of soil organic matter, improve agro properties, intensify the activity of soil microorganisms. It was found that the number of basic groups of soil microorganisms increases by 1-2 orders of magnitude, and the enzymatic activity of the soil is increased in compare with the control plot.

Keywords: oil, bioremediation, oil-polluted, soil, organic-mineral fertilizers, gravimetric, enzymes, microorganism.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 574;575.35

Ә. А. ӘЙТЕНОВА

(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан.
E-mail: aqerke@mail.ru)

ТӨМЕНГІ ЖИІЛІКТЕГІ ЭЛЕКТРОМАГНИТТІК ӨРІСТЕРДІҢ ӨСІМДІКТЕКТІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЖҮЙЕЛЕРГЕ ӘСЕРІНІҢ ЭКОЛОГИЯЛЫҚ АСПЕКТІЛЕРІ

Аннотация. Мақалада соңғы он жылдағы өзекті зерттеу тақырыбына айналып үлгерген төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістің, 10-16 Гц диапазонында әрлендіру әсерін зерттеуге бағытталған ізденістердің нәтижелері келтірілген. Ең алғашқы болып, гравитациялық, табиғи және жасанды электромагниттік өрістердің периодтық биорезонанстық әсер етулерін, ауылшаруашылық дақылдар дәндерін жоғары жылдамдықпен өсіруін және өнімдігі мен сапасын қамтамасыз етуге жауап беретін қысқа биоритмдерді ұлғайтуға негізделген, ауылшаруашылық дақылдар дәндерін биорезонанстық белсендендіру мен олардың биоритмдеріне жүйелі әсер етудің заңдылықтары тағайындалды.

Тірек сөздер: электромагниттік өріс, магниттік өріс, өсімдіктер, төменгі жиілікті электромагниттік өрістер, ауылшаруашылық өнімдері.

Ключевые слова: электромагнитное поле, магнитное поле, растения, низкочастотные электромагнитные поля, сельскохозяйственная продукция.

Keywords: electromagnetic field, magnetic field, plants, low-frequency electromagnetic fields, agricultural products.

Экология, биологияда және басқа да ғылым салаларында төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің (ТЖ ЭМӨ, 10-16 Гц) әртүрлі биологиялық жүйелерге әсерін зерттеу өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Бұл өрістерге сезімталдылық әртүрлі деңгейдегі биожүйелерден басталады: микроағзалардан өсімдіктер мен жануарларға дейін, тіптен адамдарды қоса алуға болады. Бұл электромагниттік өрістердің әмбебаптылығы әртүрлі экологиялық жүйелерге әсер етуді қарастыруды қажет етеді. Барлық өсімдіктекті және жануартекті биологиялық жүйелер үнемі табиғи және жасанды электромагниттік өрістердің әсерінде болады. Биологиялық жүйелер жердің табиғи геомагниттік өрістерімен қатар үнемі техногенді өрістердің әсерінде де болатыны белгілі.

Өмір сүру процесіне инфрақызыл, ультракүлгін және рентгенді көлемдегі электромагниттік толқындар маңызды әсерлерін тигізеді. Бірақ көптеген жылдар бойы ғалымдар жоғарғы жиіліктегі электромагниттік өрістерден төменгі жиіліктегі өрістердің аз қарқындылығына байланысты биожүйеге әсер етуі мүмкін емес деген ойда болды. Бірақ соңғы он жылда бұл көзқарас өзгеріп, бұл өрістерге биожүйеге жоғарғы сезімталдылықта екенін дәлелдеп келеді. Электромагниттік өрістердің биожүйеге қолайлы әсер ететіндігі жайлы көптеген эксперименттер жүріп жатыр. Сонымен қатар тірі организмге зиянды жақтары да зерттелуде, мәселен организмнің кеш жетілуі, рак ауруларының пайда болуы және т.б. [1]. Қазір осыған сай ғалымдарда қоршаған ортаны электромагниттік өрістердің кері әсерлерінен қорғау және белсенді түрде биожүйеге электромагниттік толқындардың техногенді қауіптерінен сақтау сұрақтары тұр.

Биожүйені жалпы қарастырмай, оның жеке бөліктеріне, яғни майлар, нәруыздар, клеткалық деңгейдегі әсерін зерттеу маңызды болып табылады.

Барлық тірі организмдер ұзақ эволюция барысында табиғаттың физика-химиялық жағдайларына, яғни температура, қысым, атмосфера құрамына, жарыққа, ылғалға, сонымен қатар жердің геомагниттік, гравитациялық, электромагниттік өрістеріне бейімделген [2].

30-жылдардың өзінде «Рим клубы» ғалымдары егер дұрыс әрекет жасалынбаса азық-түлік өндірісі адам басына 2007 жылдан бастап (жылына 15 %) күрт төмендейді, Жер ресурстары 15 %-ға азаяды, сонымен қатар қоршаған ортаның ластануы 2050 жылы максимумына жетеді, 2056 жылы Жердегі адам саны 9 млрд-қа жетеді деп болжамдар жасаған [3].

Электромагниттік өрістер әсері өнімділікті арттыруға және тыңайтқыштарды аз пайдалануға жағдай жасайды. Соңғы жылдардағы көптеген тәжірибелік зерттеулер жүргізілгеннен соң төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістер биосфераның экологиялық факторына айналып отыр.

Жұмыстың мақсаты биосфераның қазіргі экологиялық ластануы жағдайында биологиялық жүйеге төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің әсер ету заңдылықтарын зерттеуден тұрады. Зерттеу жұмыстарын жүргізе отырып, келесідей **міндеттер** алға қойылды:

– төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің биоәсеріне жағымды әсерінің заңдылықтарын тәжірибелік және теориялық түрде анықтау;

– төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің ең тиімді жиіліктегі көлемін тауып, 10-16 Гц көлемдегі жиілікпен өсімдіктекті биоәсеріне зерттеулер жүргізу;

– ауыл шаруашылығы өнімдерінің өнімділігіне, саны мен сапасының артуына қолайлы әсер ететін ең тиімді параметрлерін (уақыт, жиілік) анықтау;

Электромагниттік өрістер және биоәсерлерге әсері

Геомагниттік өріс организмнің жеке клеткаларындағы барлық процестерге және жалпы биосфераға әсер етеді.

Барлық зерттеулер көрсеткендей, гомеостазис, яғни фенотип пен генотип құрылымы мен құрамының динамикалық тұрақтылығы геомагниттік өріске байланысты, тіпті оның басқаруында болады деп те айтуға болады. Алынған зерттеулер гелиоботаниканың терең және жалпы түсініктемесін алуға мүмкіндік береді. Мұнымен қоса анықталмаған басқа да сұрақтар туындайды: тірі организмге айтарлықтай қандай геофизикалық факторлар әсер етеді, экожүйенің белгілі бір өкіліне арнайы әсері бар ма, биологиялық әрекетінің молекулалық механизмі және т.б. [4]

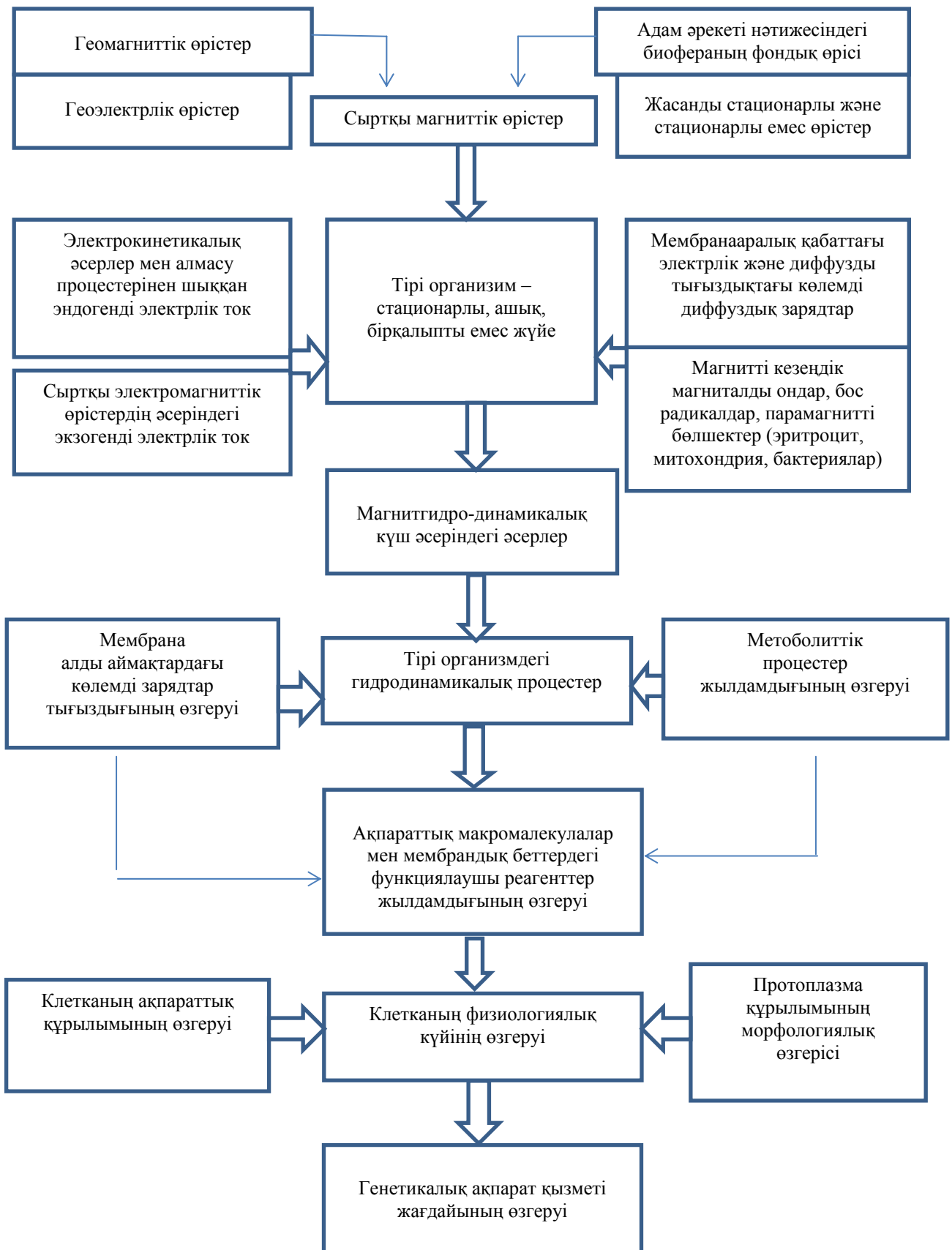
Жер бетіндегі көптеген процестерге, соның ішінде биосфераға күн белсенділігі үлкен әсер етеді. Күн белсенділігіне күнде жүріп жататын ішкі процестер жатады және сыртқы формаларының пайда болуы (дақ, факель, хромосфералық жарқылдар), олар энергияны зат түрінде және өрістер түрінде бөледі.

Магниттік өрістердің нақты қалай әсер ету механизмі жайлы деректерді классикалық ғалымдардың бұрынғы еңбектерінен көруге болады [5].

ЭМӨ биологиялық объектілердің бірыңғай сезімталдылық механизмі әлі жоқ. Қазіргі таңда ЭМӨ әсер ету механизмнің физика-химиялық, биологиялық жүйелерге әсерін түсіндіретін көптеген гипотезалар бар. Ғылыми әдебиеттерде келесідей түсіндірмелер жиі айтылады: ядролық магниттік резонанс; параметрлік магниттік резонанс; кездейсоқ және циклотрондық резонанс; өріспен өзара қарым-қатынастағы бос радикалдардың болуы, диффузия құбылысы жылдамдығының және механизмінің (клеткалық мембрананың) өзгеруі; өрісті ДНҚ және нәруыздардағы жартылай өткізгіштік әсерлері; белсенді орталығы бар молекуланың ротационды өрісінің өзгеруі; парамагниттік молекулаларға байланысты валентті көміртектің өзгеруі. Биологиялық объектілер сыртқы электромагниттік табиғат факторларының әсерінде болады. Сондықтан тірі организмнің эволюциялық дамуы белгілі бір деңгейде осы табиғи электромагниттік спектрлерге байланысты [6].

Электромагниттік өрістер жер бетіндегі барлық процестерге қатысатыны белгілі. Соның ішінде бүкіл тірі организмдер, яғни адамдардан бастап ең кіші микроағзалардың клеткаларындағы құбылыстарға әсер етеді. Төменгі жиіліктегі ЭМӨ клеткалық деңгейде организмге әсерін төменгі 1-сүреттен көруге болады.

Әдебиеттерден алынған нәтижелер бойынша, төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің әсері өсімдіктекті жүйелермен қатар жануартекті организмдерге де әсері бар екенін көруге болады. М. Г. Барышев [7] зерттеулерінен қант қызылшасы мен күнбағыс тұқымдастарының клеткасында жүретін физиологиялық процестерінің ингибитор жасауына алып келетінін анықтағанын көрдік. Оның зерттеулері бойынша, төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістер астық тұқымдастардың өсу жылдамдығына әсер ететіндігін қарастырған.



1-сурет – Төменгі жиіліктегі ЭМӨ клеткалық деңгейде организмге әсері [6]

Экспериментальды дәлелдерді сараптай отырып, мынадай экологиялық аспекті айтып өту керек. Электромагниттік өрістердің әсерін бағалағанда спектрдің амплитудасы мен енін ғана емес, модуляцияның түрін және параметрлерін (АМ, ЧМ және т.б.), сонымен қатар модулдалатын дабылды жиілік қандай екенін анықтау маңызды болып табылады. Бұрын зерттеушілер әртүрлі спектрдағы электромагниттік өрістердің биожүйеге тек энергетикалық әсерін ғана басшылыққа алған. Жоғарыдағы әдебиеттерден алынғын зерттеулерден көріп отырғандай, басқа да нақты әсерлерді қайта қарау қажеттілігі туындайды [8].

Жүргізілген зерттеулерден кейін, электромагниттік өрістерді экологиялық фактор ретінде алып қарастыруға болады. Себебі биожүйе өсімдіктекті жүйелермен қоса жануартекті жүйелердің де өмір сүру деңгейіне әсер ететіні анықталды.

Электромагниттік өрістердің энергиясын пайдалану ауыл шаруашылығында электротехнологияны пайдалану мүмкіндігін арттырады. Электромагниттік өрістермен әсер ететін құралдарды ауыл шаруашылығында пайдалану басқа да шығынға ұшырататын тыңайтқыштар және құралдарды пайдаланғаннан тиімді. Шетел және орыс ғалымдарының зерттеулерінің нәтижесі бойынша биологиялық белсенділікті арттыру электромагниттік өрістердің төменгі жиіліктегі көлемінде қолайлы әсер ететіні дәлелденуде.

ТЖ ЭМӨ биожүйелерге қолайлы әсер ететінін алға қоя отырып, тәжірибелік зерттеу жұмыстары жасалынған болатын.

Зерттеу материалы мен әдістері

Адам санының күрт өсуі, азық-түлік жетіспеушілігі себептеріне байланысты ауыл шаруашылығы өнімдерінің биорезонансты белсенділігін арттыру мақсатында төменгі жиілікті электромагниттік өрістерін пайдалану арқылы технология жасалынған [9].

Зерттеуге «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сорты және жүгерінің «Алтын-739» сорты алынды. Зерттелінетін параметрлер ретінде тұқымдардың өнгіштігі және өсу энергиясы алынды. Үлгі ГОСТ 12036-85 бойынша таңдап алынды, яғни механикалық зақымданбаған тұқымдар алынды, ал тұқымдардың көлемі 1,4-1,6 см шамасында болды. Аномалиялы бояумен, зеңмен зақымданған, дән жарнағымен зақымданған, ұрықсыз, өскен тұқым, жартысы жоғалған тұқымдар, өлі қоспалар араласқан, жердің түйіршіктері, сынған сабақ және гүл араласқан тұқымдар, ашық тұқымдардың барлығынан тазартылды.

Жүгерінің «Алтын-739» сорты мен бидайдың «Қазақстандық ерте пісетін» сортының тұқым өнгіштігі мен тұқым өсу энергиясы ГОСТ 12038-84 бойынша анықталынды. Берілген стандарт ауыл шаруашылығы тұқымдастарына арналған, бірақ қант қызылшасы, гүлді тұқымдастар мен мақта тұқымдастарынан басқа.

Үлгі үшін Петри табақшасында ТЖ ЭМӨ әсер еткізілмеген бидай тұқымдары алынды. Ал тәжірибеге қойылған тұқымдар ТЖ ЭМӨ (жиілік 10-16 Гц, уақыт 15 минут) сәулелендірілді. Тәжірибе Петри табақшасына лабораториялық жағдайда қойылды.

Тәжірибе нәтижесі және түсініктеме

БҰҰ зерттеулеріне жүгінсек, әлем бойынша ауыл шаруашылығының өнімдерімен бүкіл халықты қамтамасыз етуіне жағдай жасау үшін астық айналымын қосымша 100-ден 200 млн га егістікке ұлғайту керек. Бірақ соңғы статистикалық мәліметтерге сүйенсек, ауыл шаруашылығы көлемінің азаюына куә боламыз. Егер 80-жылдары орташа жылдық өнімділігінің ұлғаюы әлем бойынша 30 млн тоннаны құраса, кейінгі жиырма жылдың ішінде 12 млн тоннаны ғана құрап отыр, 2030 жылға дейінгі кезеңде 9 млн тоннаға дейін төмендейді деген болжамдар бар. Ал бірақ халық санының өсуі 2030 жылға қарай 8,9 млрд адамға өседі.

Халықаралық кеңестің (IGC) астық бойынша берген мәліметтері бойынша 2007 жылы ауыл шаруашылығынан 1568 млн тонна, ал 2006 жылы 1612 млн тонна астық жиналған. Мұнда байқайтынмыз әлемдік қор 315 млн-нан 282 млн тоннаға азайғанын көруімізге болады [10].

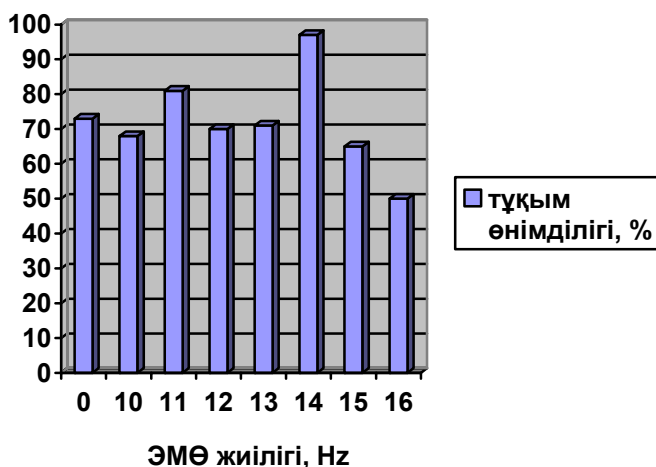
Соңғы жылдары тұқымның өнуіне, өсімдік бойының өсуіне қолайлы әсер ететін әртүрлі физикалық әсерлер туралы мәліметтер бар. Ауыл шаруашылығындағы ең бір басты проблемалардың бірі – ауыл шаруашылығы өнімдерін ұлғайту және өнімнің сапасының арттыру. Осы жағдайда ТЖ

ЭМӨ әсерін зерттеу тиімді бағыт болып табылады. Сондықтан да біз жүгері тұқымы (*Zea mays*) мен бидай тұқымын (*Triticum vulgare*) зерттеу объектісі ретінде таңдап алдық. ТЖ ЭМӨ 10-16 Гц көлемдегі жиілігінің әсері және таңдап алынған ауыл шаруашылығы өнімдерінің өсу параметрлеріне әсері зерттелінді.

Зерттеу нәтижелері төмендегі 1-кестеде, 2-суретте берілген. Нәтижесі бойынша, әрбір тұқым-дасқа жеке-жеке ең қолайлы деген ЭМӨ жиілігін анықтап алу маңызды болып табылады.

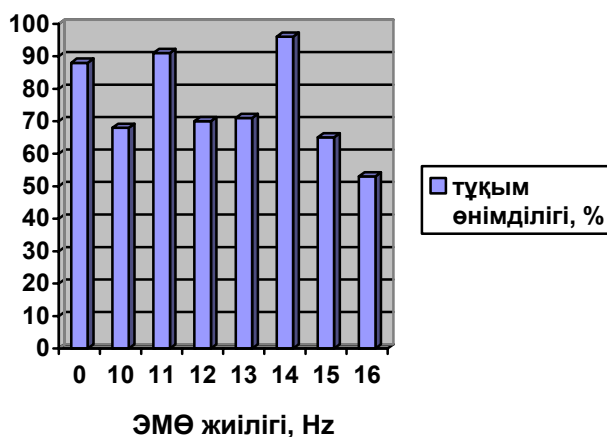
1-кесте – «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өнімділігінің ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы, $t = 15$ минут, $H = 100$ А/м

ЭМӨ жиілігі	0	10	11	12	13	14	15	16
Тұқым өнімділігі, %	73	68	81	70	71	97	65	50



2-сурет – «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өнімділігінің ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы, $t = 15$ минут, $H = 100$ А/м

ТӨ ЭМӨ бидай өнімділігіне әсерінің кішкене әсері ЭМӨ $f = 14$ Гц жиілігінде байқалды, соның ішінде тәжірибеге қойылған үлгелері бақылаулы 24%-ға асып түсті, ал қателік $\Delta = 5,7$ болды. ЭМӨ $f = 11$ Гц жиіліктегі әсерінде өнімділіктің жоғарылығы бақылаулы 8%-ға асып түсті. Бұдан басқа да параметрлерді алып өнімділікті салыстырмалы түрде көретуге болады. Ол үшін ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағынатын өну энергиясы алынады. Ол төменгі 2-кестеде, 3-суретте көрсетілген.



3-сурет – «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өну энергиясының ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы, $t = 15$ минут, $H = 100$ А/м

2-кесте – «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өну энергиясының ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы, $t = 15$ минут, $H = 100$ А/м

ЭМӨ жиілігі	0	10	11	12	13	14	15	16
Тұқым өнімділігі, %	88	68	91	70	71	96	65	53

Сонымен, өну энергиясының ЭМӨ $f = 14$ Гц жиілігіндегі әсері зерттелініп отырған параметрді максималды мәнге 96 % жеткізді. Ол бақылауы 8%-ға асып түсті. Ал ЭМӨ $f = 11$ Гц жиіліктегі әсері бақылау мен үлгі арасындағы айырмашылығы 3 % ғана құрады. Бұдан мынадай қорытындыға келуге болады, «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өну энергиясының ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы мынадай параметрлерде жоғары мәнге ие болады: яғни, ЭМӨ $f = 14$ Гц жиілігі, әсер ету уақыты $t=15$ минут, магниттік өрістің қуаты $H = 100$ А/м.

Көптеген елдерде электромагниттік өрістердің өсімдікке, өнімділікті жоғарылатуға оң әсері қазір көптеген елдерде зерттелуде. Жоғарыда аталған зерттеулер нәтижелері әлі де толық электромагниттік өрістер мен биожүйенің арасындағы механизм толық зерттелген жоқ, бірақ даму үстінде.

Бидай тұқымдасының электромагниттік өрістерге жоғары сезімталдығы рН өзгерісіне және ақуыздың босатылуына байланысты [10]. Ол клетканы тыныштық күйден шығарып, өсуін жоғарылатады және қайта қалпына келу процесін жоғарылатады. Сонымен қатар мембрананың бөгеу қызметін арттырады. Жүргізілген зерттеулер төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістер бидайдың ісіну кезеңінде метобализм процесінің белсенділенгендігін көрсеткен. Ісінудің белгілі бір уақытында ғана әсер ету деңгейі жоғары болады. Мәселен, тәжірибе қойғаннан кейін сағат 12-00 мен 22-00 арасында жоғары белсенділік көрсеткен.

Тәжірибелік зерттеулер жүргізе отырып төмендегідей қорытындылар жасалды:

1. Көптеген зерттелген әдебиеттерді талдау барысында, ТЖ ЭМӨ астық өнімділігінің өсуіне жылдамдатушы әсер беретіні анықталған.

2. ТЖ ЭМӨ бидай өнімділігіне кішкене әсері ЭМӨ $f = 14$ Гц жиілігінде байқалды, соның ішінде тәжірибеге қойылған үлгілері бақылаулы 24%-ға асып түсті, ал қателік $\Delta=5,7$ болды. ЭМӨ $f = 11$ Гц жиіліктегі әсерінде өнімділіктің жоғарылығы бақылаулы 8%-ға асып түсті.

3. «Қазақстандық ерте пісетін» бидай сортының өну энергиясының ТЖ ЭМӨ жиілігіне бағыныштылығы мынадай параметрлерде жоғары мәнге ие болды: яғни , ЭМӨ $f = 14$ Гц жиілігі, әсер ету уақыты $t = 15$ минут, магниттік өрістің қуаты $H = 100$ А/м.

4. Жалпы зерттеу нәтижелерін қорытындылай келсек, төменгі жиіліктегі 10–14 Гц ЭМӨ би-дай өнімділігінің өсу жылдамдығына қолайлы әсер етеді. Ал тұрмыстық техникалардың шығаратын жиілігі 50 Гц ЭМӨ керісінше өсу механизмін тежейді.

ӘДЕБИЕТ

- 1 Шевель Д.М. Электромагнитная безопасность. – Киев: ВЕК+, Киев: НТИ, 2002. – 432 с.
- 2 Карташев А.Г. Электромагнитная экология. – Томск: ТГУ, 2000. – 275 с.
- 3 Надиров Н.К., Низовкин В.М. Энергоэкологическая ситуация XXI века. – Алматы, 2008. – 146 с.
- 4 Старухин Р.С., Белицын И.В., Урвачев С.А. // «Проблемы энергосбережения и экологии в промышленном и жилищно-коммунальном комплексах»: сборник статей VII Междунар. научно-практ. конф. – Пенза, 2006. – С. 221–223.
- 5 Апашева Л. М., Лобанов А.В., Комиссаров Г.Г. Влияние флуктуирующего электромагнитного поля на ранние стадии развития растений // Доклады академии наук. – 2006. – Т. 406, № 1. – С. 108-110.
- 6 Куликова Н.Н. Экологические аспекты действия низкочастотного электромагнитного поля на биологические объекты растительного: Диссертация. – М., 2006. – С. 13-16.
- 7 Важенин Е.И. Перспективы использования в пищевой индустрии технологий с применением электромагнитных полей крайне низких частоты // Научный журнал КубГАУ. – № 85(01). – 2013. – С. 23-27.
- 8 Барышев М.Г. Влияние электромагнитного поля на биологические системы растительного происхождения. – Краснодар: Кубанский гос. ун-т, 2002. – 297 с.
- 9 Солодова Е.В. Влияние геофизических параметров на магнитные свойства растений. Информационные агротехнологии. Ч. III. – Алматы, 2010. – 26 с.
- 10 Патент РК №15355. 2004. Способ обработки семенного и посадочного материала // Аширов А.М., Надиров Н.К., Онгарбаев Е.С.
- 11 Надиров Н.К. Об использовании информационных агротехнологий // «Информационные агротехнологии» сб. докл. – Алматы, 2009. – С. 5-10.
- 12 Штеменко Н.Т., Сорочан О.О. Вільні амінокислоти на ранніх фазах проростання зерна кукурудзи // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, №5. – С. 441-445.

REFERENCES

- 1 Shevel' D.M. Jelektromagnitnaja bezopasnost'. Kiev: VEK+, Kiev: NTI, 2002. 432 s.
- 2 Kartashev A.G. Jelektromagnitnaja jekologija. Tomsk: TGU, 2000. 275 s.
- 3 Nadirov N.K., Nizovkin V.M. Jenergojekologicheskaja situacija XXI veka. Almaty, 2008. 146 s.
- 4 Staruhin R.S., Belicyn I.V., Urvachev S.A. «Problemy jenergosberezhenija i jekologii v promyshlennom i zhilishhno-kommunal'nom kompleksah»: sbornik statej VII Mezhdunar. nauchno-prakt. konf. Penza, 2006. S. 221–223.
- 5 Apasheva L. M., Lobanov A.V., Komissarov G.G. Vlijanie fluktuirujushhego jelektromagnitnogo polja na rannie stadii razvitiya rastenij. Doklady akademii nauk. 2006. T. 406, № 1. S. 108-110.
- 6 Kulikova N.N. Jekologicheskie aspekty dejstvija nizkochastotnogo jelektromagnitnogo polja na biologicheskie ob#ekty rastitel'nogo: Dissertacija. M., 2006. S. 13-16.
- 7 Vazhenin E.I. Perspektivy ispol'zovanija v pishhevoj industrii tehnologij s primeneniem jelektromagnitnyh polej krajne nizkikh chastoty. Nauchnyj zhurnal KubGAU. № 85(01). 2013. S. 23-27.
- 8 Baryshev M.G. Vlijanie jelektromagnitnogo polja na biologicheskie sistemy rastitel'nogo proishozhdenija. Krasnodar: Kubanskij gos. un-t., 2002. 297 s.
- 9 Solodova E.V. Vlijanie geofizicheskikh parametrov na magnitnye svojstva rastenij. Informacionnye agrotehnologii. Ch. III. Almaty, 2010. 26 s.
- 10 Patent RK №15355. 2004. Sposob obrabotki semennogo i posadochnogo materiala. / Ashirov A.M., Nadirov N.K., Ongarbaev E.S.
- 11 Nadirov N.K. Ob ispol'zovanii informacionnyh agrotehnologij. «Informacionnye agrotehnologii» sb. dokl. Almaty, 2009. S. 5-10.
- 12 Shtemenko N.T., Sorochan O.O. Vil'ni aminokisloty na rannih fazah prorostanija zerna kukurudzi. Fiziologija i biohimija kul'turnyh rastenij. 2001. T. 33, №5. S. 441-445.

Резюме

А. А. Айтенова

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан)

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ
НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНОГО

В статье представлены результаты исследований на изучение стимулирующего влияния низкочастотных электромагнитных полей в диапазоне 10-16 Гц. Для первого времени устанавливались закономерности био-резонансной активации семян сельскохозяйственных культур и системы влияния на биоритмов, состоящих из гравитационных, натуральных и искусственных электромагнитных полей. Периодическое биорезонансное влияние биоритмов, вызывают увеличение скорости прорастания, производительности и улучшение качества сельскохозяйственные семена культур.

Ключевые слова: электромагнитное поле, магнитное поле, растения, низкочастотные электромагнитные поля, сельскохозяйственная продукция.

Summary

A. A. Aitenova

(Al-Farabi Kazakh national university, Almaty, Kazakhstan)

ENVIRONMENTAL ASPECTS OF THE LOW-FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELD'S ACTION
ON BIOLOGICAL SYSTEMS OF PLANT ORIGIN

In the article the results of research directed on study of stimulating effect of low-frequency electromagnetic fields in 10-16 Hz range are presented. For the first time the regularities of bioresonant activation of seeds of agricultural crops and system influence on their biorhythms consisting of gravitational, natural and artificial electromagnetic fields, were defined. Periodic bioresonant influence of biorhythms, causes the increase of germination speed, productivity and improvement of quality of agricultural seed crops.

Keywords: electromagnetic field, magnetic field, plants, low-frequency electromagnetic fields, agricultural products.

Поступила 10.0.2014 г.

М. С. АЛЕКСЮК, П. Г. АЛЕКСЮК, И. А. ЗАЙЦЕВА, Н. С. СОКОЛОВА,
А. С. ТУРМАГАМБЕТОВА, Д. Ю. КОРУЛЬКИН, А. П. БОГОЯВЛЕНСКИЙ, В. Э. БЕРЕЗИН

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан.
E-mail: virprot@mail.ru)

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУСИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИДОВ КЕМПФЕРОЛА

Аннотация. Поиск новых противоиных препаратов растительного происхождения является важной задачей современной фармакологии. На сегодняшний день продукты растений можно встретить в 30% фармацевтических препаратов, находящихся на рынке. Эпидемиологические исследования флавоноидных препаратов показали положительную связь между потреблением продуктов, содержащих кемпферол и снижением риска развития ряда заболеваний, таких как рак и сердечно-сосудистые заболевания. Многочисленные доклинические исследования показали, что кемпферол и некоторые гликозиды кемпферола обладают широким спектром фармакологической активности. Проведено сравнительное изучение способности производных кемпферола подавлять репродукцию вируса гриппа. Установлено, что максимальная противовирусная активность выявляется при наличии одного углеводного остатка с малонил или галлоил заместителями. Добавление второй углеводной цепи к молекуле препарата снижает противовирусные свойства производных кемпферола. Показано, что производные кемпферола могут рассматриваться как перспективный источник для получения новых эффективных противовирусных средств.

Ключевые слова: грипп, кемпферол, противовирусная активность.

Тірек сөздер: тұмау, кемпферол, вирусқа қарсы белсенділік.

Keywords: influenza, kaempferol, antiviral activity.

Введение. Поиск новых противоиных препаратов растительного происхождения является важной задачей современной фармакологии, поскольку растительные препараты практически не имеют противопоказаний, обладают более выраженными свойствами биоутилизации и отсутствием проявлений токсичности. На сегодняшний день продукты растений можно встретить в 30% фармацевтических продуктов, находящихся на рынке [1]. Эпидемиологические исследования флавоноидных препаратов показали положительную связь между потреблением продуктов, содержащих кемпферол и снижением риска развития ряда заболеваний, таких как рак и сердечно-сосудистые заболевания. Многочисленные доклинические исследования показали, что кемпферол и некоторые гликозиды кемпферола обладают широким спектром фармакологической активности, в том числе антиоксидантной, противовоспалительной, антимикробной, противоопухолевой, кардиопротекторной, нейропротекторной, антидиабетической, антиостеопорозной, эстрогенной/антиэстрогенной, анксиолитической, обезболивающей и противоаллергенной активностью [2].

*Целью наших исследований являлся сравнительный анализ противовирусных свойств производных кемпферола, выделенных из разных видов *Polygonum*.*

Материалы и методы исследования

В работе были использованы 4 препарата производных кемпферола, любезно предоставленные сотрудниками кафедры химии и технологии органических веществ, природных соединений и полимеров факультета химии и химической технологии КазНУ (таблица 1).

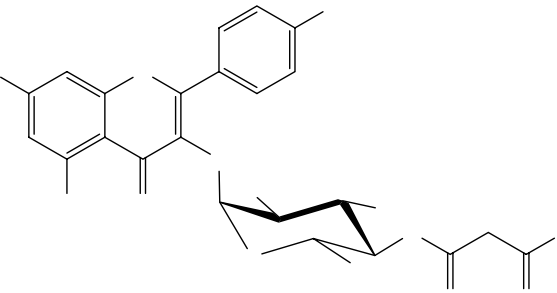
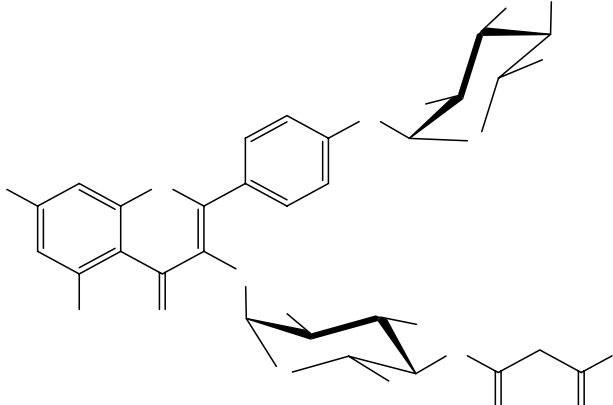
Суспензии и растворы изучаемых препаратов готовили на фосфатно-солевом буфере, pH 7,2.

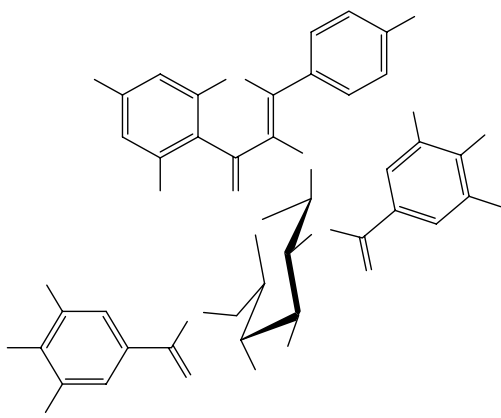
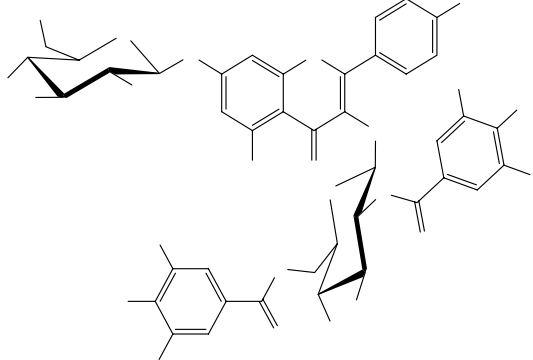
Для выращивания вирусов использовали куриные эмбрионы, полученные из птицефабрик АО «Аллель Агро» (Алматы, Казахстан).

Исследования проводили с вирусом гриппа, штаммы A/Almaty/8/98 (H3N2) и A/FPV/Rostock/34 (H7N1).

Вирусы выращивали в аллантаической полости 10-дневных куриных эмбрионов в течение 24–36 часов при 37°C.

Таблица 1 – Флавоноидные гликозиды, выделенные из растений рода *Polygonum*

Препарат	Структура флавоноидных гликозидов и результаты их структурного анализа
1	<div style="text-align: center;">  <p>3-O-(4''-малонил)-α-L-рамнопиранозидкемпферола</p> </div> <p>УФ: λ_{MAX} (MeOH), нм: 270, 358; (+NaOMe): 284, 392; (+NaOAc): 291, 375; (+NaOAc/H₃BO₃): 276, 363; (+AlCl₃): 290, 371; (+AlCl₃/HCl): 289, 371</p> <p>¹³C-ЯМР (100 MHz, CD₃OD) σ м.д.: 156.3 (C-2), 135.2 (C-3), 178.4 (C-4), 161.7 (C-5), 98.2 (C-6), 166.0 (C-7), 93.8 (C-8), 158.5 (C-9), 104.4 (C-10), 122.7 (C-1'), 128.9 (C-2',6'), 115.5 (C-3',5'), 156.9 (C-4'), 105.6 (C-1''), 71.7 (C-2''), 73.2 (C-3''), 62.6 (C-4''), 71.9 (C-5''), 72.3 (C-6''), 168.2 (C-1'''), 42.3 (C-2'''), 169.7 (C-3''')</p> <p>MS m/z (70 eV): 533, 532, 446, 430, 429, 417, 400, 367, 337, 335, 302, 301, 288, 285, 279, 278, 260, 259, 248, 245, 242, 231, 179, 178, 170, 165, 163, 154, 153, 152, 136, 135, 134, 126, 125, 112, 108, 107, 97, 92, 83, 77, 71, 69, 56, 52, 45, 43, 39</p> <p>Кислотный гидролиз вещества 1 показал отщепление рамнозы с образованием незамещенного кемпферола. Щелочной сплав вещества дал в качестве продуктов 1,3,5-триоксibenзол и 4-оксибензойную кислоту.</p>
2	<div style="text-align: center;">  <p>3-O-(4''-малонил)-α-L-рамнопиранозил-4'-O-α-L-рамнопиранозидкемпферола</p> </div> <p>УФ: λ_{MAX} (MeOH), нм: 270, 358; (+NaOMe): 271, 389; (+NaOAc): 270, 377; (+NaOAc/H₃BO₃): 270, 359; (+AlCl₃): 269, 382; (+AlCl₃/HCl): 271, 359</p> <p>¹³C-ЯМР (100 MHz, CD₃OD) σ м.д.: 156.2 (C-2), 135.1 (C-3), 178.6 (C-4), 161.5 (C-5), 98.1 (C-6), 166.2 (C-7), 93.6 (C-8), 158.7 (C-9), 104.3 (C-10), 122.6 (C-1'), 128.3 (C-2',6'), 114.6 (C-3',5'), 156.2 (C-4'), 105.8 (C-1''), 71.7 (C-2''), 73.1 (C-3''), 62.5 (C-4''), 71.9 (C-5''), 72.4 (C-6''), 105.1 (C-1'''), 72.4 (C-2'''), 71.8 (C-3'''), 73.5 (C-4'''), 73.8 (C-5'''), 16.7 (C-6'''), 167.7 (C-1''''), 41.6 (C-2''''), 168.9 (C-3''''')</p> <p>MS m/z (70 eV): 679, 678, 592, 576, 566, 432, 431, 417, 400, 367, 337, 335, 302, 301, 288, 285, 279, 278, 260, 248, 245, 242, 231, 179, 178, 170, 165, 163, 153, 152, 146, 136, 135, 134, 126, 125, 112, 108, 107, 97, 92, 83, 77, 72, 69, 55, 52, 45, 42, 39</p> <p>Стадийный кислотный гидролиз вещества 2 показал отщепление рамнозы с образованием незамещенного кемпферола. Щелочной сплав вещества дал в качестве продуктов 1,3,5-триоксibenзол и 4-оксибензойную кислоту.</p>

1	2
3	 <p style="text-align: center;">3-О-(2'',6''-дигаллоил)-β-D-глюкопиранозидкемпферола</p> <p>УФ:λ_{MAX} (MeOH), нм: 270, 355; (+NaOMe): 283, 388; (+NaOAc): 287, 371; (+NaOAc/H₃BO₃): 278, 361; (+AlCl₃): 288, 371; (+AlCl₃/HCl): 287, 365</p> <p>¹³C-ЯМР (100 MHz, CD₃OD) σ м.д.: 156.3 (C-2), 135.2 (C-3), 178.4 (C-4), 161.8 (C-5), 98.4 (C-6), 166.3 (C-7), 93.9 (C-8), 158.7 (C-9), 104.4 (C-10), 122.7 (C-1'), 128.9 (C-2',6'), 115.4 (C-3',5'), 157.4 (C-4'), 105.2 (C-1''), 73.8 (C-2''), 73.1 (C-3''), 71.6 (C-4''), 77.6 (C-5''), 64.1 (C-6''), 166.4 (C-1'''), 121.1 (C-2'''), 2''''), 109.5 (C-3'''), 7''', 3''''), 145.6 (C-4'''), 5''', 4''''), 140.1 (C-6'''), 6'''')</p> <p>MS m/z (70 eV): 752, 751, 599, 583, 430, 429, 417, 400, 367, 337, 335, 301, 288, 285, 279, 278, 260, 259, 248, 245, 242, 231, 179, 178, 169, 165, 154, 153, 152, 136, 135, 134, 126, 125, 112, 108, 107, 97, 92, 83, 77, 71, 69, 56, 51, 45, 42, 39</p> <p>Кислотный гидролиз вещества 3 показал отщепление рамнозы с образованием незамещенного кемпферола. Щелочной гидролиз вещества показал наличие галловой кислоты. Щелочной сплав вещества дал в качестве продуктов 1,3,5-триоксibenзол и 4-оксibenзойную кислоту.</p>
4	 <p style="text-align: center;">3-О-(2'',6''-дигаллоил)-β-D-глюкопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозидкемпферола</p> <p>УФ:λ_{MAX} (MeOH), нм: 268, 351; (+NaOMe): 273, 408; (+NaOAc): 267, 402; (+NaOAc/H₃BO₃): 266, 353; (+AlCl₃): 276, 405; (+AlCl₃/HCl): 275, 405.</p> <p>¹³C-ЯМР (100 MHz, CD₃OD) σ м.д.: 156.2 (C-2), 135.4 (C-3), 178.2 (C-4), 161.8 (C-5), 98.5 (C-6), 166.4 (C-7), 93.7 (C-8), 158.6 (C-9), 104.3 (C-10), 122.5 (C-1'), 129.0 (C-2',6'), 115.5 (C-3',5'), 157.6 (C-4'), 105.4 (C-1''), 73.7 (C-2''), 73.1 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.6 (C-5''), 64.2 (C-6''), 106.3 (C-1'''), 73.4 (C-2'''), 76.7 (C-3'''), 71.3 (C-4'''), 77.9 (C-5'''), 63.7 (C-6'''), 166.1 (C-1''''), 1''''), 121.2 (C-2''''), 2'''''), 109.2 (C-3''''), 7''''), 3'''''), 145.9 (C-4''''), 5''''), 4''''), 5'''''), 140.5 (C-6''''), 6'''')</p> <p>MS m/z (70 eV): 914, 913, 761, 745, 598, 592, 583, 430, 429, 417, 400, 367, 337, 335, 301, 288, 285, 279, 278, 260, 259, 248, 245, 242, 241, 231, 179, 178, 169, 165, 153, 152, 136, 135, 134, 126, 125, 112, 108, 107, 97, 92, 83, 77, 71, 69, 55, 52, 44, 42, 39</p> <p>Стадийный кислотный гидролиз вещества 4 показал отщепление глюкозы, с образованием незамещенного кемпферола. Щелочной гидролиз вещества показал наличие галловой кислоты. Щелочной сплав вещества дал в качестве продуктов 1,3,5-триоксibenзол и 4-оксibenзойную кислоту.</p>

Определение противовирусных свойств выполняли методом «скрининг-тест», рассчитанным на подавление репродукции вируса в количестве 100 ЭИД₅₀ заданными дозами лекарственных препаратов. Критерием противовирусного действия считали снижение инфекционного титра вируса при обработке противовирусным средством в сравнении с контролем [3].

Вирулицидную активность исследуемых препаратов определяли путем обработки вирусосодержащего материала лекарственными препаратами в различных дозах при 37°C в течение 30 мин с последующим титрованием инфекционности обработанного материала. За реальное вирулицидное действие принимали разность между инфекционным титром вируса в пробе до и после экспозиции с исследуемым препаратом [4].

Инфекционный титр вирусов на куриных эмбрионах определяли путем десятикратных разведений в соответствии с методом Reed и Muench[5].

Математическая обработка результатов проводилась стандартными методами [6].

Результаты и обсуждение исследования

Было проведено изучение вирусингибирующей активности 4 растительных препаратов кемпферола с разным строением углеводной части молекулы (см. Таблицу 1). Действие всех четырех испытуемых препаратов было исследовано в диапазоне доз 0,4–10,0 мг/кг из расчета 0,02–0,25 мг на куриный эмбрион.

Для определения вирусингибирующей активности были использованы штамм вируса гриппа птиц А/крячка/Южная Африка/1/61 (H5N3), вируса гриппа человека А/Алматы/8/98 (H3N2), а также 2 парамиксовируса: вирус болезни Ньюкасла, штамм ПМВ-1/курица/Алматы/541/04 и вирус Сендай, штамм 960.

Вирусы выращивали в аллантоисной полости 9–10 дневных куриных эмбрионов в течение 36 часов при 37°C.

Таблица 2 – Вирусингибирующая активность флавоноидов с агликоном кемпферола

Препарат	Процент подавления инфекционной активности вируса гриппа, %		
	0,4 мг/кг 0,02 мг/к.э. 0,01%	2 мг/кг 0,1 мг/к.э. 0,05%	10 мг/кг 0,5 мг/к.э. 0,25%
Вирус гриппа человека А/Алматы/8/98 (H3N2)			
1	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
2	37,0±4,8	39,0±4,8	61,0±4,8
3	11,0±2,1	46,0±4,8	83,0±4,8
4	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±0,8
Вирус гриппа птиц А/крячка/Южная Африка/1/61 (H5N3)			
1	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
2	4,0±0,8	11,0±2,1	15,0±2,1
3	31,0±4,8	43,0±4,8	100,0±0,0
4	2,0±0,8	6,0±0,8	33,0±4,8
ПМВ-1/курица/Алматы/541/04			
1	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
1	2	3	4
2	0,0±0,0	2,0±0,8	4,0±0,8
3	10,0±2,1	27,0±2,1	42,0±4,8
4	5,0±0,8	10,0±2,1	15,0±2,1
Вирус Сендай, штамм 960			
1	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
2	0,0±0,0	10,0±2,1	15,0±2,1
3	0,0±0,0	13,0±2,1	40,0±4,8
4	0,0±0,0	3,0±0,8	7,0±0,8

Вирусингибирующие свойства препаратов изучали методом «скрининг-тест», рассчитанным на нейтрализацию вируса в количестве 100 ЭИД₅₀ заданными дозами препаратов. Критерием противовирусного действия считали наличие достоверного отличия титра вируса по сравнению с контролем.

Установлено, что препарат № 1 полностью подавлял репродукцию 100 инфекционных доз вирусов гриппа, вируса болезни Ньюкасла и вируса Сендай во всем диапазоне исследуемых доз. Препарат № 3 в дозе 10 мг/кг был способен подавлять репродукцию вирусов гриппа на 83–100%, а репродукцию парамиксовирусов не менее, чем на 40%. Препараты № 2 и № 4 во всем диапазоне исследуемых доз проявляли слабый вирусингибирующий эффект (таблица 2).

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что препараты производные кемпферола 3-О-(4''-малонил)- α -L-рамнопиранозид и 3-О-(2'',6''-дигаллоил)- β -D-глюкопиранозид обладали выраженными вирусингибирующими свойствами по отношению к орто- и парамиксовирусам. При изучении зависимости «структура – активность» было показано, что наличие двух углеводных цепей в качестве заместителя у агликона кемпферола снижает антивирусные свойства флавоноида.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Moriarty L.F., Omer S.B. Infants and the seasonal influenzavaccine: A global perspective on safety, effectiveness, and alternate forms of protection // Hum VaccinImmunother. – 2014. – Vol. 10, N 9. – P. 10-12.
- 2 Chen A.Y., Chen Y.C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention // Food Chem. Jun. – 2013. – Vol. 138, N 4. – P. 2099-2107.
- 3 Spalatin J., Hanson R.P., Beard P.D. The haemagglutination-elution pattern as a marker in characterizing Newcastle disease virus // AvianDis. – 1970. – Vol. 14. – P. 542-549.
- 4 Шнейдер М.А. Методические вопросы научной разработки противовирусных средств. – Минск: Наука, 1977. – С. 150.
- 5 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent end points // Amer. J. Hyg. – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
- 6 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М., 1975. – С. 295.

REFERENCES

- 1 Moriarty L.F., Omer S.B. Infants and the seasonal influenzavaccine: A global perspective on safety, effectiveness, and alternate forms of protection. Hum VaccinImmunother. 2014. Vol. 10, N 9. P. 10-12.
- 2 Chen A.Y., Chen Y.C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. Food Chem. Jun. 2013. Vol. 138, N 4. P. 2099-2107.
- 3 Spalatin J., Hanson R.P., Beard P.D. The haemagglutination-elution pattern as a marker in characterizing Newcastle disease virus. AvianDis. 1970. Vol. 14. P. 542-549.
- 4 Shnejder M.A. Metodicheskie voprosy nauchnoj razrabotki protivovirusnyh sredstv. Minsk: Nauka, 1977. S. 150. (in Russ)
- 5 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent end points. Amer. J. Hyg. 1938. Vol. 27. P. 493-497.
- 6 Urbah V.Ju. Statisticheskij analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovaniyah. M., 1975. S. 295. (in Russ)

Резюме

*М. С. Алексюк, П. Г. Алексюк, И. А. Зайцева, Н. С. Соколова,
А. С. Тұрмағамбетова, Д. Ю. Корулькин, А. П. Богоявленский, В. Э. Березин*

(ҚР БЖҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан)

КЕМПФЕРОЛА ГЛИКОЗИДТЕРДІҢ ВИРУСЫНТАЛАНДЫРҒЫШ БЕЛСЕНДІЛІКТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Инфекцияға қарсы жаңа өсімдік тектес препараттарды іздестіру заманауи фармакологияда маңызды мәселе болып отыр. Бүгінгі күні нарықта фармацевтикалық препараттардың 30%-нан өсімдік өнімін кездестіруге болады. Флавоноидтық препараттардың эпидемиологиялық зерттеулер өнім тұтынумен арасында оң байланыс көрсетті, кемпферол кездеседі және аурулардың өсуі төмендеумен, ісік аурулары сондай сияқты жүрек қан-тамыр аурудың қатарының дамуы азаюда. Көптеген клиникаға дейінгі зерттеулер, кемпферол және кейбір гликозидтер кемпферола фармакологиялық белсенділіктер кең спектрмен ие болып жатқанын көрсетті. Тұмау вирусының репродукциясы қабілеттіліктеріне салыстырмалы зерттеуі өткізілген туынды кемпферола басым болды. Анықталған, максималді вирусқа қарсы белсенділіктен бір көмірсутек қалдықта малонил немесе галлоил орынбасарлармен бар болуы білініп жатты. Препаратқа молекула екінші көмірсутек тізбегі қосылуы кемпферола туындысының вирусқа қарсы қасиеттерін төмендетті. Көрсетілген, жаңа тиімді вирусқа қарсы құралдар алу үшін болашағы бар туынды ретінде кемпферола қарастырылды.

Тірек сөздер: тұмау, кемпферол, вирусқа қарсы белсенділік.

Summary

*M. S. Alexyuk, P. G. Alexyuk, I. A. Zaitseva, N. S. Sokolova,
A. S. Turmagambetova, D. Y. Korulkin, A. P. Bogoyavlenskiy, V. E. Berezin.*

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

STUDY OF VIRUS INHIBITING ACTIVITY OF KAEMPFEROL GLYCOSIDES

The search for new anti-infective preparations of plant origin is an important goal of modern pharmacology as herbal medicines have virtually no contraindications, have more pronounced properties of bioutilization and the absence of toxicity. To date, plant products can be found in 30% of pharmaceutical preparations that are on the market. Epidemiological studies of flavonoid drugs showed a positive association between the consumption of foods containing kaempferol and a reduced risk of several diseases, such as cancer and cardiovascular disease. Numerous preclinical studies showed that kaempferol and some kaempferol glycosides possess a wide spectrum of pharmacological activity.

The aim of this research was to conduct a comparative study of kaempferol derivatives having the ability to inhibit influenza virus reproduction. It was found that the maximum antiviral activity detected in the presence of a carbohydrate residue with malonyl or galloylsubstituents. Adding a second carbohydrate chain to the drug molecule reduces the antiviral properties of kaempferol derivatives. It is shown that kaempferol derivatives can be considered as a promising source for new effective antiviral agents.

Keywords: influenza, kaempferol, antiviral activity.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК578.832

*М. С. АЛЕКСЮК, А. П. БОГОЯВЛЕНСКИЙ, И. А. ЗАЙЦЕВА, П. Г. АЛЕКСЮК,
Н. С. СОКОЛОВА, А. С. ТУРМАГАМБЕТОВА, В. Э. БЕРЕЗИН*

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан.
E-mail: virprot@mail.ru)

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ
АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

Аннотация. Грипп по-прежнему остается одним из самых распространенных вирусных заболеваний человека. Каждый год в период эпидемии, более 10% мирового населения подвержены риску вирусной инфекции. В связи с этим, разработка новых профилактических и лечебных противовирусных растительных препаратов является одной из основных задач в современной вирусологии.

Целью данных исследований было сравнительное изучение способности производных салициловой кислоты ингибировать репродукцию вируса гриппа.

В результате исследований было показано, что максимальная противовирусная активность обнаружена в присутствии ацетил или сульфогруппы, но добавление аминогруппы салицилатов снижает активность. Кроме того, исследования показали, что салицилаты можно рассматривать в качестве перспективного источника для новых эффективных противовирусных агентов.

Ключевые слова: грипп, ингибиторы нейраминидазы, салицилаты, противовирусная активность.

Тірек сөздер: тұмау, ингибиторлар, нейраминидазалар, салицилаттар, вируска қарсы белсенділік.

Keywords: influenza, neuraminidase inhibitors, salicylates, antiviral activity.

Введение. На сегодняшний день грипп остается одним из самых массовых вирусных заболеваний человека. Ежегодно в эпидемический период более 10% населения земного шара подвергаются риску вирусной инфекции. При этом каждый второй взрослый человек успевает заболеть дважды (весной и осенью). Грипп ежегодно становится причиной гибели более 200 тыс. человек. При этом наибольшую долю среди заболевших составляют люди от 5 до 25 и более 60 лет [1]. Все

это заставляет службы здравоохранения вкладывать серьезные средства в разработку новых средств профилактики и терапии гриппа. Наиболее эффективным методом борьбы с вирусной инфекцией является применение этиотропных препаратов, которые можно условно разделить на три группы: 1) средства, подавляющие репродукцию вируса на разных стадиях цикла размножения, 2) средства, проявляющие способность подавлять развитие вируса на стадии «раздевания», 3) средства, способные подавлять нейраминидазную активность вируса [2]. Наиболее популярными средствами этиотропной терапии гриппа в XXI веке стали так называемые ингибиторы нейраминидазной активности. Это обусловлено рядом причин, одной из которых является расшифровка механизма действия подобных препаратов. Установлено, что структура активного центра нейраминидазы консервативна не только между подтипами, но и типами фермента, что указывает на эволюционно-отлаженную систему его функционирования. Активный центр фермента сформирован функциональными остатками Arg118, Asp151, Arg152, Arg224, Glu276, Arg292, Arg371 и Tyr406, а также структурными остатками Glu119, Arg156, Trp178, Ser179, Asp (или Asn у N 7 и N 9) 198, Ile222, Glu227, Glu277, Asp293 и Glu425 [3–6]. Расшифровка механизма гидролиза олигосахарида, содержащего нейраминную кислоту за счет формирования оксокарбониевого иона позволило разработать ингибиторы фермента вируса, успешно применяемые в медицине под названием занамивир и тамифлю [2].

Успех этих препаратов инициировал цикл работ по дизайну новых ингибиторов нейраминидазы. Показано, что основным элементом структуры нового класса ингибиторов (без кислородного атома в цикле) являются шести- или пятичленные циклы, способные в той или иной степени повторить пространственную структуру соединения, участвующего в ферментативном процессе. Проблема использования подобных соединений состоит в том, что ингибиторы нейраминидазы, как правило, не снижают инфекционность вируса, а только препятствуют его дальнейшему распространению, что может приводить к различного рода осложнениям при проведении подобных терапевтических мероприятий. Поэтому дизайн подобных соединений должен быть сконцентрирован не только на возможности подавления ферментативной активности вируса, но и способности ингибиторов нейраминидазы подавлять инфекционную активность вируса.

Целью наших исследований являлось сравнительное изучение противовирусной активности некоторых производных салициловой кислоты. Выбор препаратов был обусловлен тем, что производные салициловой кислоты широко применяются в медицине, как антисептические, жаропонижающие, противоревматические, противовоспалительные и болеутоляющие средства. Кроме того, ранее было показано, что салициловая кислота и ее производные способны эффективно подавлять ферментативную активность вируса гриппа разной антигенной структуры [7].

Материалы и методы исследования

В работе были использованы следующие препараты: салициловая, ацетилсалициловая, сульфосалициловая и парааминосалициловая кислота (таблица 1).

Приготовление суспензий и растворов препаратов осуществляли в растворе фосфатно-солевого буфера, рН 7,2.

Для выращивания вирусов использовали дневные куриные эмбрионы, полученные от птицефабрик АО «Аллель Агро» (Алматы, Казахстан).

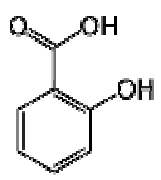
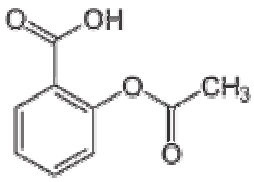
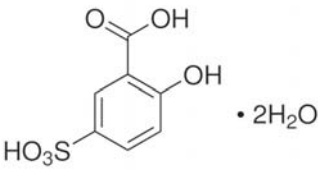
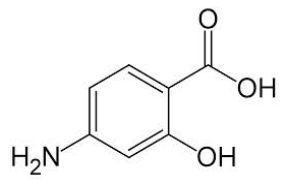
Исследования проводили с вирусом гриппа, штаммы A/Almaty/8/98 (H3N2) и A/FPV/Rostock/34 (H7N1).

Вирусы выращивали в аллантаической полости 10-дневных куриных эмбрионов в течение 24-36 часов при 37°C.

Определение противовирусных свойств выполняли методом «скрининг-тест», рассчитанным на подавление репродукции вируса в количестве 100 ЭИД₅₀ заданными дозами лекарственных препаратов. Критерием противовирусного действия считали снижение инфекционного титра вируса при обработке противовирусным средством в сравнении с контролем [8, 9].

Вирулицидную активность исследуемых препаратов определяли путем обработки вирусосодержащего материала лекарственными препаратами в различных дозах при 37°C в течение 30 мин с последующим титрованием инфекционности обработанного материала. За реальное вирулицидное

Таблица 1 – Препараты, исследованные на наличие противовирусных свойств

№	Название соединения	Структурная формула
1	Салициловая кислота	
2	Ацетилсалициловая кислота	
3	Сульфосалициловая кислота	
4	Парааминосалициловая кислота	

действие принимали разность между инфекционным титром вируса в пробе до и после экспозиции с исследуемым препаратом [9].

Инфекционный титр вирусов на куриных эмбрионах определяли путем десятикратных разведений в соответствии с методом Reed и Muench [10].

Математическая обработка результатов проводилась стандартными методами [11].

Результаты и обсуждение исследования

Изучение противовирусных свойств производных салициловой кислоты было обусловлено предварительным изучением способности этих соединений подавлять ферментативную активность вируса гриппа. Было установлено, что уже в дозе 1 мг/кг производные салициловой кислоты способны подавлять 50% ферментативной активности вируса.

Для сравнительного анализа противовирусной активности производных салициловой кислоты были изучены их вирулицидные свойства в дозе 20 мг/кг (рисунок 1). Установлено, что наличие боковых заместителей молекул салициловой кислоты в значительной степени влияет на способность препаратов подавлять инфекционность вируса гриппа. Так, если салициловая кислота была способна подавлять инфекционность вируса гриппа на 0,5 lg ЭИД50, то добавление остатка серной кислоты в пара-положении к гидроксильному остатку увеличивало вирулицидную способность препарата в несколько раз и была на уровне 4 lg ЭИД50, что соответствовало снижению интактных вирионов более, чем на 99%. Замена гидроксильного радикала на ацетатный также приводила к резкому увеличению способности препарата подавлять инфекционность вируса гриппа. Добавление аминогруппы в пара-положении к гидроксильному радикалу салициловой кислоты приводило к подавлению вирулицидной активности препарата. Сопоставление вирулицидной активности исследуемых препаратов с коммерческим препаратом тамифлю показывает, что наличие в структуре препаратов атома азота препятствует проявлению способности подавлять инфекционность вируса гриппа.

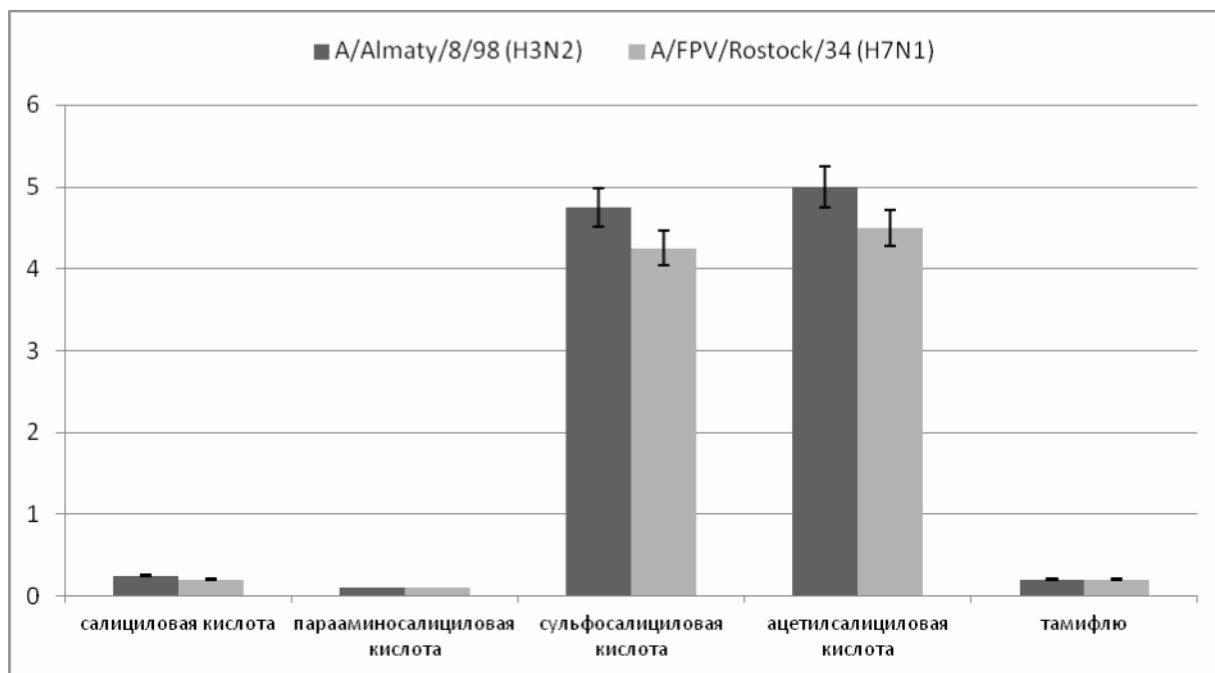


Рисунок 1 – Вирулицидная активность производных салициловой кислоты.

Примечание. Вирусы были обработаны препаратами в дозе 20 мг/кг в течение 30 мин при 37°C; результаты представлены в виде разницы десятичных логарифмов разведения между титром вируса до обработки препаратом и после; различия в подавлении инфекционности вирусов достоверны ($P < 0,05$). По оси ординат дана степень снижения титра инфекционности вируса в десятичных логарифмах разведения.

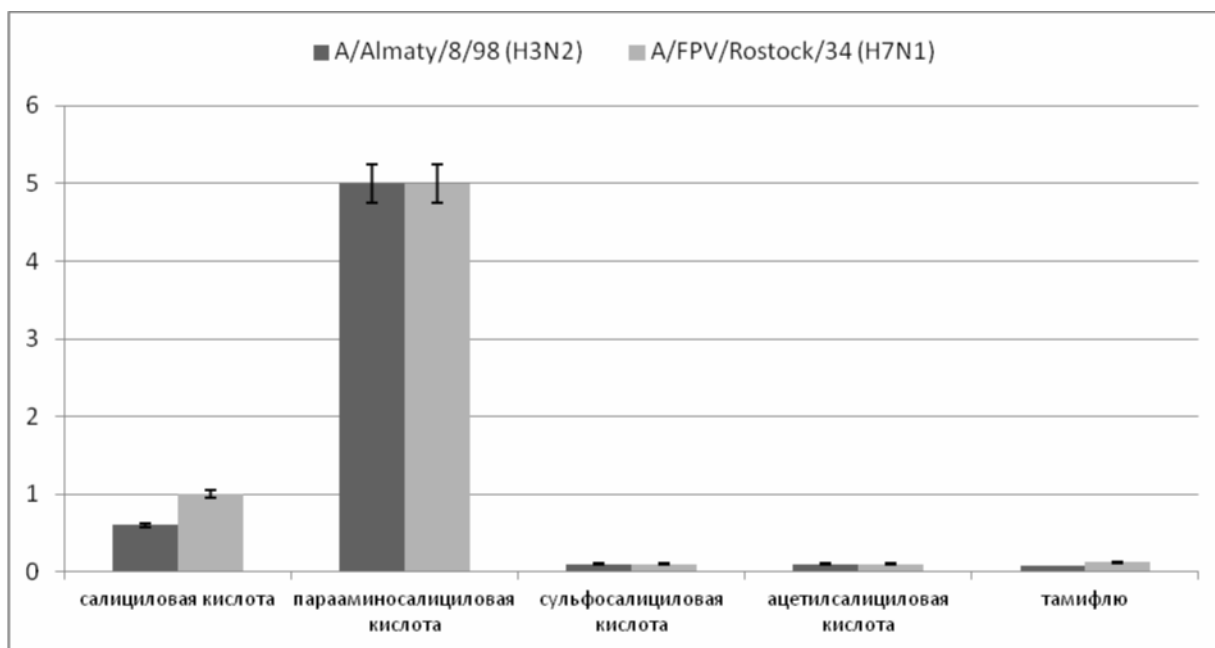


Рисунок 2 – Сравнительная вирусингибирующая активность производных салициловой кислоты.

Примечание. По оси доза препарата, подавляющая 50% репродукции 100 инфекционных доз вируса.

Также была изучена вирусингибирующая активность производных салициловой кислоты. Показано, что способность блокировать репродукцию 100 инфекционных доз вируса в значительной степени зависит от структуры используемого препарата (рисунок 2). Показано, что наличие боковых заместителей играет существенную роль в проявлении противовирусной активности производных

водных салициловой кислоты, способной эффективно подавлять репродукцию вируса гриппа в дозе от 0,6 мг на куриный эмбрион. Так, добавление аминогруппы в пареположении снижает противовирусную активность не менее, чем в 5 раз, а добавление сульфогруппы увеличивает противовирусные свойства препарата в 5 раз. Замена гидроксильной группы на ацетатную также увеличивает противовирусные свойства препарата.

Заключение. В проведенных исследованиях было установлено, что дизайн новых препаратов, подавляющих ферментативную активность вируса гриппа, должен учитывать разные стороны противовирусной активности соединений. Высокая способность подавлять ферментативную активность вируса, как правило, сопровождается высокими вирусингибирующими свойствами, но не всегда сочетается со способностью препаратов подавлять инфекционность вируса. Добавление дополнительных заместителей, находящихся на максимальном удалении от гидроксильной группы салициловой кислоты, может существенно изменять наличие противовирусной активности препарата. Исследованные препараты производных салициловой кислоты, широко применяемых в медицинской практике в качестве антисептических, жаропонижающих, противоревматических, противовоспалительных и болеутоляющих средств, могут рассматриваться как перспективный источник для дизайна и получения новых эффективных противовирусных средств.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Moriarty L F, Omer S B. Infants and the seasonal influenzavaccine: A global perspective on safety, effectiveness, and alternate forms of protection // *Hum VaccinImmunother.* – 2014. – Vol. 10, N 9. – P. 10-12.
- 2 von Itzstein M., Wu W.-Y., Kok G.B., Pegg M.S., Dyason J.C., Jin B., Phan T.V., Smythe M.L., White H.F., Oliver S.W., Colman P.M., Varghese J.N., Ryan D.M., Woods J.M., Bethel R.C., Hotham V.J., Cameron J.M., Penn C.R. Rational design of potent sialidasebased inhibitors of influenza virus replication. // *Nature.* – 1993. – 363: 418-423.
- 3 Varghese J.N., Colman P.M. Three-dimensional structure of the neuraminidase of influenza virus A/Tokyo/3/67 at 2.2 Å resolution // *J. Mol. Biol.* – 1991. – 221: 473-486.
- 4 Varghese J.N., Colman P.M., van Donkelaar A., Blick T.J., Sharasrabudhi A., McKimm-Breschkin J.L. Structural evidence for a second sialic acid binding site in avian influenza virus neuraminidases // *Biochem.* 1997. – 94: 11808-11812.
- 5 Takahashi T., Suzuki T., Hidari K.I-P.J., Miyamoto D., Suzuki Y. A molecular mechanism for the low-pH stability of sialidase activity of influenza A virus N2 neuraminidases // *FEBS Lett.* – 2003. – 543: 71-75.
- 6 Штыря Ю.А., Мочалова Л.В., Бовин Н.В. Нейраминидаза вируса гриппа: структура и функция // *Acta Naturae.* – 2009. – № 2. – С. 28-34.
- 7 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 биол.* – 2013. – № 3/2(59). – С. 425-426.
- 8 Spalatin J., Hanson R.P., Beard P.D. The haemagglutination-elution pattern as a marker in characterizing Newcastle disease virus // *AvianDis.* – 1970. – Vol. 14. – P. 542-549.
- 9 Шнейдер М.А. Методические вопросы научной разработки противовирусных средств. Минск: Наука, 1977. – С. 150.
- 10 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // *Amer. J. Hyg.* – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
- 11 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях, – М., 1975. – С. 295.

REFERENCES

- 1 Moriarty L F, Omer S B. Infants and the seasonal influenzavaccine: A global perspective on safety, effectiveness, and alternate forms of protection. *Hum VaccinImmunother.* 2014. Vol. 10, N 9. P. 10-12.
- 2 von Itzstein M., Wu W.-Y., Kok G.B., Pegg M.S., Dyason J.C., Jin B., Phan T.V., Smythe M.L., White H.F., Oliver S.W., Colman P.M., Varghese J.N., Ryan D.M., Woods J.M., Bethel R.C., Hotham V.J., Cameron J.M., Penn C.R. Rational design of potent sialidasebased inhibitors of influenza virus replication. *Nature.* 1993. 363: 418-423.
- 3 Varghese J.N., Colman P.M. Three-dimensional structure of the neuraminidase of influenza virus A/Tokyo/3/67 at 2.2 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 1991. 221: 473-486.
- 4 Varghese J.N., Colman P.M., van Donkelaar A., Blick T.J., Sharasrabudhi A., McKimm-Breschkin J.L. Structural evidence for a second sialic acid binding site in avian influenza virus neuraminidases. *Biochem.* 1997. 94: 11808-11812.
- 5 Takahashi T., Suzuki T., Hidari K.I-P.J., Miyamoto D., Suzuki Y. A molecular mechanism for the low-pH stability of sialidase activity of influenza A virus N2 neuraminidases. *FEBS Lett.* 2003. 543: 71-75.
- 6 Shtyrja Ju.A., Mochalova L.V., Bovin N.V. Nejraminidaza virusa grippa: struktura I funkcija. *Acta Naturae.* 2009. N 2. S. 28-34 (in Russ)
- 7 Sokolova N.S., Turmagambetova A.S., Zajceva I.A., Aleksjuk M.S., Anarkulova Je.I., Akanova K.S., Moldahanov E.S., Bogojavlenskij A.P., Berezin V.Je. Soedinenija s ciklogeksanovym uglerodnym skeletom kak ingibitory nejraminidazy virusa grippa. *Vestnik KazNU. Serija biol.* 2013. N 3/2(59). S. 425-426 (in Russ)
- 8 Spalatin J., Hanson R.P., Beard P.D. The haemagglutination-elution pattern as a marker in characterizing Newcastle disease virus. *AvianDis.* 1970. Vol. 14. P. 542-549.
- 9 Shnejder M.A. Metodicheskie voprosy nauchnoj razrabotki protivovirusnyh sredstv. *Minsk: Nauka,* 1977. S. 150. (in Russ)
- 10 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Amer. J. Hyg.* 1938. Vol. 27. P. 493-497.
- 11 Urbach V.Ju. Statisticheskij analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovanijah. *M.,* 1975. S. 295. (in Russ)

Резюме

*М. С. Алексюк, А. П. Богоявленский, И. А. Зайцева, П. Г. Алексюк,
Н. С. Соколова, А. С. Тұрмагамбетова, В. Э. Березин*

(ҚР БЖҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан)

ТУЫНДЫ САЛИЦИЛ ҚЫШҚЫЛЫН ВИРУСҚА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІКТЕРІН САЛЫСТЫРМАЛЫ ЗЕРТТЕУ

Тұмау адамдар арасында бұрынғыша ең көп таралған вирустық аурулар ретінде қалып отыр. Жыл сайын эпидемия кезеңінде әлемнің 10%-дан астам тұрғыны вирустық инфекцияға душар болады. Осыған байланысты вирустың алдын алуға және вирусқа қарсы емдік жаңа өсімдіктес препараттарын әзірлеп шығару заманауи вирусологияда бірден бір негізгі мақсат болып отыр. Осы зерттеудің мақсаты тұмау вирусының репродукциясын туынды салицил қышқылының ингибиторлық қабілеттіліктерімен салыстырмалы зерттеу еді.

Зерттеу нәтижесі вирусқа қарсы жоғарғы белсенділік ацетилдің немесе сульфотоптар қатысуында білінген, бірақ аминотоптардың қосылуы салицилаттардың белсенділігін төмендетінін көрсетті. Сонымен қатар, зерттеу салицилаттарды вирусқа қарсы жаңа тиімді агенттер үшін болашағы зор препарат ретінде қарастыруға болатынын көрсетті.

Тірек сөздер: тұмау, ингибиторлар, нейраминидазалар, салицилаттар, вирусқа қарсы белсенділік.

Summary

*M. S. Alexyuk, A. P. Bogoyavlenskiy, I. A. Zaitseva, P. G. Alexyuk,
N. S. Sokolova, A. S. Turmagambetova, V. E. Berezin*

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

COMPARATIVE STUDY OF ANTIVIRAL ACTIVITY OF SALICYLIC ACID DERIVATIVES

Influenza is still one of the most widespread viral diseases of human. Every year in the epidemic period, more than 10% of the global population are at risk of viral infection. In this regard, the development of preventive and therapeutic antiviral plant preparations is one of the major practical goal in modern virology.

The purpose of these researches was a comparative study of the ability of salicylic acid derivatives to inhibit influenza virus reproduction.

As a result of studies, it was found that maximal antiviral activity was detected in the presence of the acetyl or sulfo group, but adding of amino group salicylates decreases the activity. Thus, it was shown that the addition of further substituents at the para position to the hydroxyl group of salicylic acid can significantly change the availability of the antiviral activity of the preparation. Also, studies have shown that salicylates can be considered as a promising source for new effective antiviral agents.

Keywords: influenza, neuraminidase inhibitors, salicylates, antiviral activity.

Поступила 10.0.2014 г.

Г. Б. БАЙМАХАНОВА¹, Б. К. ЗАЯДАН², Д. Н. МАТОРИН³, А. К. САДАНОВ¹

¹Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан, e-mail: bgulb@mail.ru,

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан,

³Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)

СОЗДАНИЕ КОНСОРЦИУМОВ НА ОСНОВЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ

Аннотация. В статье представлены данные о создании новых консорциумов на основе выделенных и коллекционных культур цианобактерий, микроводорослей и азотобактерий (*ZOB-1 -Anabaena variabilis-Chlorella vulgaris- Azotobacter sp.* и *ZBOB-2 -Nostoc calcicola - Chlorella vulgaris - Azotobacter sp.*).

Подтверждена высокая скорость роста выделенных цианобактерий. Показано, что изучаемые культуры цианобактерий обладают высокой азотфиксирующей и фотосинтезирующей активностью.

Ключевые слова: азотфиксация, консорциум, цианобактерия, азотобактерия, микроводоросль.

Тірек сөздер: азотфиксациялар, консорциум, цианобактериялар, азотбактерия, микробалдырлар.

Keywords: nitrogen fixation, the consortium, cyanobacteria, azotobacteria, microalgae.

Цианобактерии привлекают к себе внимание специалистов разных профилей в связи с древностью их происхождения, особенностями генома и широчайшими адаптационными свойствами, позволившими им сохраниться в течение миллиардов лет. И ныне цианобактерии являются процветающей группой микроорганизмов [1].

В настоящее время известна роль цианобактерий в почве в качестве азотфиксаторов, накопителей органического вещества, центров микрокосмов как автотрофных организмов с удивительными способностями к симбиотрофным взаимоотношениям [2, 3]. Последнее свойство цианобактерий особенно интересно в связи со смещением парадигмы использования в биотехнологии не монокультур микроорганизмов, а консорциумов. В природе цианобактерии никогда не наблюдаются в виде популяций клеток одного вида. В природе они находятся в сообществах и, являясь эдификаторами микросообществ, они могут менять микробный состав, что дает возможность конструирования искусственных микроконсорциумов на основе этих организмов.

Цианобактерии, в качестве партнеров таких ассоциаций, исследованы незначительно. В то же время они являются непременным компонентом микробиоты почвы с потенциальной способностью давать вспышки размножения на ее поверхности, обладают агрономически значимой азотфиксацией и являются первичными продуцентами органического вещества. Способность к синтезу физиологически активных веществ, стимулирующих корнеобразование у высших растений, делает их объектом пристального внимания микробиологов и биотехнологов. Однако, с точки зрения целенаправленного конструирования микробных консорциумов, практически вне поля зрения осталось необычная коммуникабельность цианобактерий, т.е. их способность вступать в прочные или временные связи с самыми обычными почвенными бактериями. Все вышесказанное обуславливает своевременность исследований по этим организмам, как объектам биотехнологии [4–6].

Целью данной работы было создание консорциумов на основе вновь выделенных цианобактерий.

Материалы и методы исследований

Объектами исследований служили пробы воды, отобранные на рисовых полях Карауктибинского опорного пункта Казахского НИИ рисоводства им. Ибрая Жахаева г. Кызылорды, а также водные пробы, отобранные из Иссыкского озера и из горячего источника Тургенъ Енбекши-казахского района Алматинской области. Определение видового состава цианобактерий в пробах, отобранных из различных водных экосистем, проводили по методике Сиренко с использованием определителей [7–9]. Для выделения чистой альгологической культуры из накопительной применяли микробиологические методы – разделение, пересевы, чашечный метод на средах Громова №6, BG-11. Культивация проводилась в условиях лабораторного люминостата в непрерывном режиме

при температуре 25–30°C и освещенности 3000–2000 лк. Для оценки активности цианобактерий использовались альгологически и бактериологически чистые формы [10, 11].

Для проверки на бактериальную чистоту, культуры пересевались на стерильный 0,25 % мясной бульон. Чистоту культуры определяли по помутнению бульона. Микроскопирование проводили на микроскопе Meiji (Япония). Исследование динамики роста культур проводилось по определению оптической плотности на спектрофотометре PD-303 (Япония) при длине волны 750 нм [12].

Измерения активности фотосинтеза проводили на импульсном флуорометре- WaterPAM (Walz, Германия) [13, 14].

Для создания консорциума, помимо цианобактерий, были использованы штамм *Chlorella vulgaris* Z-1 из коллекции кафедры биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби и штамм *Azotobacter xp.* из коллекции Института микробиологии и вирусологии РК. Культуры водорослей культивировались на среде Громова, культура *Azotobacter xp.* на среде Эшби. Для выращивания консорциумов была составлена среда путем смешивания в равных соотношениях сред Громова и Эшби.

Результаты исследований и обсуждение

Для выявления способности цианобактерий к азотфиксации обычно исследуют динамику их роста по приросту биомассы на среде без источника азота [15, 16]. Результаты наших экспериментов показали, что при выращивании культур на среде без источника азота наибольшей активностью обладают культуры *Anabaena variabilis* и *Nostoc calcicola* (рисунок 1.). Рост клеток культур *Spirulina sp.*К-1, *Oscillatoria sp.*К-1 был намного ниже.

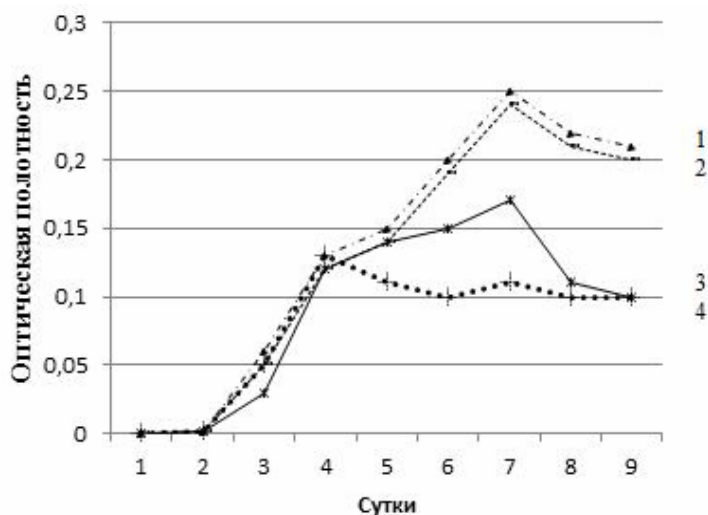


Рисунок 1 – Динамика роста культур цианобактерий *Anabaena variabilis* (1), *Nostoc calcicola* (2), *Spirulina sp.*К-1(4) и *Oscillatoria sp.*К-1(3) в среде без добавления азота

Высокая активность роста культур *Anabaena variabilis* и *Nostoc calcicola* на питательной среде без добавления азота позволяет предполагать, что эти культуры более эффективно получают азот путем его связывания из атмосферы. Известно, что штамм *Anabaena variabilis* характеризуется высокой скоростью роста в безазотистой среде, что коррелирует с большой частотой образования гетероцист и высокой активностью нитрогеназы [12].

Был проведен биохимический анализ количества азота в клетках выделенных азотфиксирующими цианобактериями. Исследовали культуры *Anabaena variabilis* и *Nostoc calcicola*, которые культивировались на среде BG-11 с азотом и без него. Опыт проводили в трех повторностях. При измерении количества азота в качестве контрольного штамма брали мутантный штамм *Chlamydomonas reinhardtii* СС-124 не фиксирующий атмосферный азот (рисунок 2).

Из рисунка видно, что количество азота в культуре *Anabaena variabilis* составляет 10,2 %, а культуры *Nostoc calcicola* 9,9%, тогда как в контрольном штамме *Chlamydomonas reinhardtii* СС-124 количество азота равно 4,2%. Это объясняется тем, что культуры *Anabaena variabilis* и *Nostoc calcicola* являются азотфиксирующими цианобактериями и фиксируют молекулярный азот.

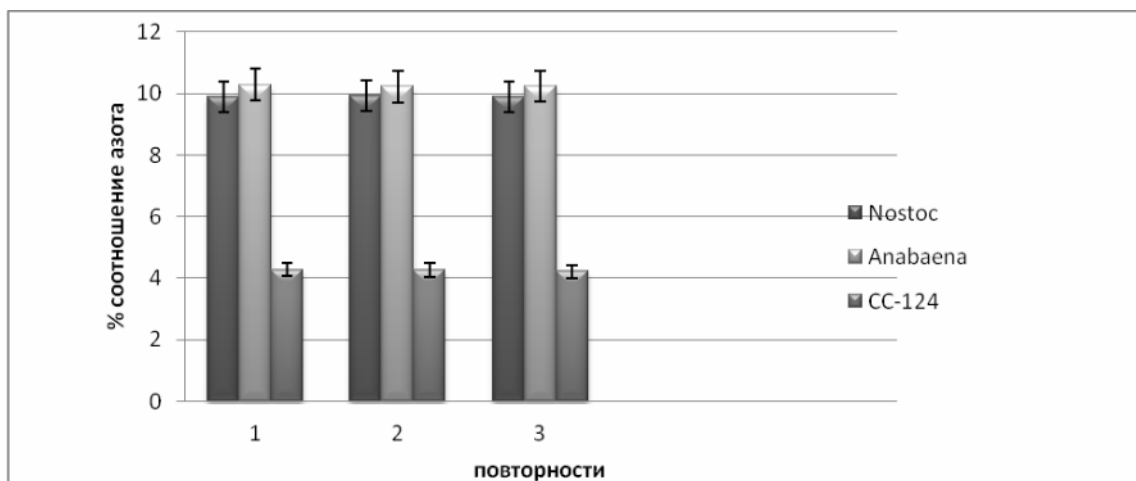


Рисунок 2 – Количественное содержание азота в исследуемых культурах азотфиксирующих цианобактерий *Anabaena variabilis*, *Nostoc calcicola* и цианобактерии *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124

Создание микробных консорциумов на основе азотфиксирующих цианобактерий и азотобактерий открывает новые перспективы в агробиотехнологии и может быть использовано для экологических целей, когда возникает потребность в стабильно работающих микробных сообществах [17]. Для создания консорциумов были выбраны цианобактерии с высокой азотфиксирующей активностью *A. variabilis* и *N. calcicola*. Для усиления процесса азотфиксации в консорциумы добавлялся штамм *Azotobacter xp.* При создании консорциума, для нейтрализации pH среды вносили микроводоросль *Chlorella vulgaris*. Показано, что штаммы *A. variabilis* и *N. calcicola* защелачивают среду до pH 8, а микроводоросль *Chlorella vulgaris* нейтрализует pH среды в течение 3-4 суток.

В результате проведенных исследований были созданы новые консорциумы цианобактерий, микроводорослей и азотобактерий – ZOB-1 (*A. variabilis*- *Chlorella vulgaris*- *Azotobacter xp.*) и ZBOB-2 (*N. calcicola* - *Chlorella vulgaris*-*Azotobacter xp.*).

Высокая фотосинтетическая активность цианобактерий в составе созданных консорциумов ZOB-1 и ZBOB-2 была подтверждена при изучении фотосинтеза с использованием флуоресцентных методов. На рисунке 3 представлены световые кривые относительной скорости нециклического электронного транспорта (rETR) у чистых культур цианобактерий *A. variabilis* и *N. calcicola* и созданных на их основе консорциумов ZOB-1 и ZBOB-2.

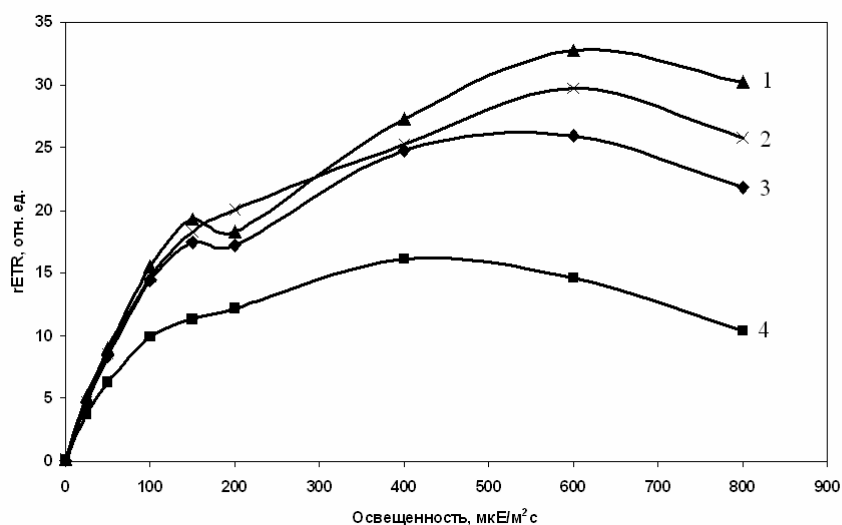


Рисунок 3 – Световые кривые относительной скорости нециклического электронного транспорта (rETR) у чистых культур цианобактерий *Nostoc calcicola* (4) и *Anabaena variabilis* (3) и созданных на их основе консорциумов ZOB-1 (2) и ZBOB (1) при длительном 7-дневном культивировании в среде без азота

На рисунке видно, что при длительном культивировании в средах, не содержащих азот, скорость нециклического транспорта, связанная с выделением кислорода и фиксацией CO₂, резко увеличивается у цианобактерий в составе консорциумов ZOB-1 и ZBOB-2. Возможно, это связано с улучшением условий для связывания азота из атмосферы в созданных консорциумах. Таким образом, при длительном культивировании консорциумов на средах, не содержащих азот, цианобактерии не испытывают азотного голодания. Зависимость фотосинтеза микроводорослей от содержания азота в среде была ранее нами продемонстрирована в работах [18, 19].

По результатам проведенных исследований можно сделать заключение, что вновь созданные консорциумы обладают высокой азотфиксирующей и фотосинтезирующей активностью и могут быть предложены для обогащения почв, связанными азотом.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Franche C., Lindström K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants // *Plant Soil*. – 2009. – Vol. 321. – P. 35-59.
- 2 Prasanna R., Soodb A., Jaiswala P., Nayaka S., Gupta V., Chaudharya V., Joshia M., Natarajana C. Rediscovering Cyanobacteria as Valuable Sources of Bioactive Compounds (Review) // *Appl. biochem. and microbiol.* – 2010. – Vol. 46, N 2. – P. 119-134.
- 3 Панкратова Е.М., Зяблых Р.Ю., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc paludosum* Kiitz. // *Альгология*. – 2004. – Т. 14, № 4. – С. 445-458.
- 4 Bergman B. *Nostoc* Gunnerasymbiosis. In: Rai A.N., Bergman B, Rasmussen U (eds) *Cyanobacteria in symbiosis* // Dordrecht: Kluweracademic. – 2002. – P. 207-232.
- 5 Pawlowski K., Sprent J.I. Comparison between actino-rhizal symbiosis and legumesymbiosis. In: Pawlowski K., Newton W.E. (eds) *Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses* // Dordrecht: Springer. – 2008. – P. 261-288.
- 6 Acea, M.J., Diz N., Prieto-Fernández A. Microbial populations in heated soils inoculated with cyanobacteria // *Biology and Fertility of Soils*. – 2001. – Vol. 33. – P. 118-125.
- 7 Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – Киев: Наука думка, 1975. – 247 с.
- 8 Определитель бактерий Берджи. Т. 1. – Изд. 9 / Под ред. Дж. Хоулта и др. – М.: Мир, 1997. – 520 с.
- 9 Музафаров А.М., Эргашев А.Э., Халилова С.Х. Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии. – Ташкент: Фан, 1987. – 88. – Т. 1, Т. 3. – С. 3-1405.
- 10 Rai A.N. (ed.). *Handbook of Symbiotic Cyanobacteria*. Boca Raton. – Florida: CRC, 1990. – 253 p.
- 11 Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К. Коллекция микроводорослей и методы их культивирования. – Алматы, 2013. – 158 с.
- 12 Jones K.M., Haselkorn R. Newly Identified cytochrome c oxidase operon in the nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. Strain PCC 7120 specifically induced in heterocysts // *Journal of Bacteriology*. – 2002. – May. – P. 2491-2499.
- 13 Schreiber U. Pulse-Amplitude (PAM) fluorometry and saturation pulse method // In: Papageorgiou G and Govindjee (eds) *Chlorophyll fluorescence: A signature of Photosynthesis*, Springer, Dordrecht. The Netherlands. – 2004. – P. 279-319.
- 14 Маторин Д.Н., Каратеева А.В., Осипов В.А., Лукашев Е.П., Сейфуллина Н.Х., Рубин А.Б. Влияние углеродных нанотрубок на параметры флуоресценции хлорофилла зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* // *Российские нанотехнологии*. – 2010. – Т. 5, № 5-6. – С. 71-76.
- 15 Цоглин Л.Н., Пронина Н.А. Биотехнология микроводорослей. – М.: Научный мир, 2012. – 184 с.
- 16 Лобакова Е.С., Дольникова Г.А., Корженевская Т.Г. Особенности цианобактериально-бактериальных комплексов микросимбионтов растительных синцианозов // *Микробиология*. – 2001. – Т. 70, № 1. – С. 111-116.
- 17 Elmerich C, Newton W.E. *Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. Springer. The Netherlands. – 2007. – 234 p.
- 18 Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей. – М.: Ижевск, ИКИ-РХД, 2012. – 256 с.
- 19 Antal T.K., Matorin D.N., Ilyash L.V., Volgusheva A.A., Osipov V.A., Konyuhov I.V., Krendeleva T.E., Rubin A.B. Probing of photosynthetic reactions in four phytoplanktonic algae with a PEA fluorometer // *Photosynthesis Research*. – 2009. – Vol. 102. – P. 67-76.

REFERENCES

- 1 Franche C., Lindström K., Elmerich C. *Plant Soil*. 2009, 321, 35-59 (in Engl.)
- 2 Prasanna R., Soodb A., Jaiswala P., Nayaka S., Gupta V., Chaudharya V., Joshia M., Natarajana C. Rediscovering *Appl. biochem. and microbiol.* 2010. 46, 2. 119-134 (in Engl.)
- 3 Pankratova E.M., Zjablyh R.Ju., Kalinin A.A., Kovina A.L., Trefilova L.V. *Al'gologija*. 2004. 14, 4. 445-458 (in Engl.)
- 4 Bergman B. *Nostoc* Gunnerasymbiosis. In: Rai A.N., Bergman B, Rasmussen U (eds) *Dordrecht: Kluweracademic*. 2002. 207-232 (in Engl.)
- 5 Pawlowski K., Sprent J.I. *Dordrecht: Springer*, 2008. 261-288 (in Engl.)
- 6 Acea, M.J., Diz N., Prieto-Fernández A. *Biology and Fertility of Soils*. 2001. 33: 118-125. (in Engl.)
- 7 Sirenko L.A., Sakevich A.I., Osipov L.F., Lukina L.F. i dr. *Metody fiziologo-biohimicheskogo issledovanija vodoroslej v gidrobiologicheskoy praktike*. Kiev: Nauka dumka, 1975. 247 (in Russ.)

- 8 *Opređelitel' bakterij Berdzhii*. Т. 1. Изд. 9. Под ред. Houltia Dzh. i dr. М.: Mir, 1997. 520 s (in Russ.)
- 9 Muzafarov A.M., Jergashev A.Je., Halilova S.H. *Opređelitel' sine-zelenyh vodoroslej Srednej Azii*. Tashkent: Fan, 1987.88. Т. 1, Т. 3. S. 3-1405. (in Russ.)
- 10 Rai A.N. (ed.). *Handbook of Symbiotic Cyanobacteria*. Boca Raton. Florida: CRC. 1990. 253 p. (in Engl.)
- 11 Zajadan B.K., Akmuhanova N.R., Sadvakasova A.K. *Kollekcija mikrovodoroslej i metody ih kul'tivirovanija*. Almaty, 2013. 158 s. (in Russ.)
- 12 Jones K. M., Haselkorn R. *Journal of Bacteriology*. 2002. May. R. 2491-2499. (in Engl.)
- 13 Schreiber U. In: *Papageorgiou G and Govindjee (eds) Chlorophyll fluorescence: A signature of Photosynthesis*, Springer, Dordrecht. The Netherlands . 2004. 279-319. (in Engl.)
- 14 Matorin D.N., Karateeva A.V., Osipov V.A., Lukashev E.P., Sejfullina N.H., Rubin A.B. *Rossijskie nanotehnologii*. 2010. Т. 5, № 5-6. S. 71-76. (in Russ.)
- 15 Coglin L.N., Pronina N.A. *Biotehnologija mikrovodoroslej*. М.: Nauchnyj mir, 2012. 184 s. (in Russ.)
- 16 Lobakova E.S., Dol'nikova G.A., Korzhenevskaja T.G. *Mikrobiologija*. 2001. Т. 70. № 1. S. 111-116. (in Russ.)
- 17 Elmerich C., Newton W.E. *Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. Springer. The Netherlands. 2007. 234 p. (in Engl.)
- 18 Matorin D.N., Rubin A.B. *M. Izhevsk, IKI-RHD*. 2012. 256 s. (in Russ.)
- 19 Antal T.K., Matorin D.N., Ilyash L.V., Volgusheva A.A., Osipov V.A., Konyuhov I.V., Krendeleva T.E., Rubin A.B. *Photosynthesis Research*. 2009. Vol. 102. P. 67-76. (in Engl.)

Резюме

Г. Б. Баймаханова¹, Б. К. Заядан², Д. Н. Маторин³, А. К. Саданов¹

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

²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан,

³М. В. Ломоносов атындағы Мәскеу мемлекеттік университеті, Мәскеу, Ресей)

АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯДА ҚОЛДАНУ ҮШІН ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАР НЕГІЗІНДЕ КОНСОРЦИУМДАР ҚҰРУ

Мақалада цианобактериялардың, микробалдырлардың және азотбактериялардың (ZOB-1 –*Anabaena variabilis*- *Chlorella vulgaris*- *Azotobacter sp.* И ZBOB-2 –*Nostoc calcicola* – *Chlorella vulgaris* – *Azotobacter sp.*) коллекциялық культураларының негізінде бөлініп алған жаңа консорциумдарды құру туралы мәліметтер келтірілген. Бөліп алынған цианобактериялардың өсуінің жоғарғы жылдамдығы дәлелденген. Зерттелінген цианобактериялар жоғары азотфиксациялаушы және фотосинтездеуші белсенділікке ие екендігі, көрсетілген.

Тірек сөздер: азотфиксациялар, консорциум, цианобактериялар, азотбактерия, микробалдырлар.

Summary

G. B. Baimakhanova¹, B. K. Zayadan¹, D. N. Matorin², A. K. Sadanov¹

¹Institute of Microbiology and virology, Almaty, Kazakhstan,

²Al-Farabi Kazakh national university, Almaty, Kazakhstan,

³Lomonosov Moscow state university, Moscow, Russia)

THE CREATION OF CONSORTIA ON THE BASIS OF CYANOBACTERIA FOR USE IN AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY

In the article new consortium based on isolated and collectible cultures of cyanobacteria, microalgae and azotobacteria were presented (ZOB-1 - *Anabaena variabilis* - *Chlorella vulgaris* - *Azotobacter sp.* and ZBOB - 2 - *Nostoc calcicola* - *Chlorella vulgaris* - *Azotobacter sp.*) was created.

The high rate of growth and photosynthetic activity of algae in these consortiums was confirmed.

Keywords: nitrogen fixation, the consortium, cyanobacteria, azotobacteria, microalgae.

Поступила 10.0.2014 г.

Р. К. БЛИЕВА, Ж. Б. СУЛЕЙМЕНОВА,
Ж. К. РАХМЕТОВА, А. Е. НУРЛЫБАЕВА, Ж. К. САДУЕВА

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

ДЛИТЕЛЬНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *Aspergillus awamori* 1-8/2 – ПРОДУЦЕНТА КОМПЛЕКСА ПЕКТИНРАСЩЕПЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ

Аннотация. Показано преимущество культивирования мицелиальных микроорганизмов в иммобилизованном на подложке состоянии в глубинных условиях роста относительно традиционного периодического метода выращивания свободных клеток в форме пеллетов. При длительном культивировании сроки культивирования продуцентов возрастают в 20 раз, удлиняется стадия активного ферментообразования, обеспечивается многократность использования первоначально иммобилизованной культуры. Кроме того, экономится сырье на приготовление сред и посевного материала, упрощаются процессы выделения фермента за счет того, что культуральная жидкость не требует фильтрации вследствие иммобилизации биомассы на подложке. Все эти преимущества иммобилизации микромицетов могут существенно сказаться на всем процессе биосинтеза ферментов, а также резко снизить себестоимость продукта.

Ключевые слова: пектинрасщепляющие ферменты, микромицеты, селекция, длительное культивирование, иммобилизация.

Тірек сөздер: пектиныдыратушы ферменттер, микромицеттер, селекция, ұзақ мерзімге дақылдау, иммобилизация.

Keywords: pectin degrading enzymes, micromycetes, selection, long-term cultivation, immobilization.

Введение. При культивировании мицелиальных микроорганизмов в глубинных условиях роста образуется мицелий различной формы. Форма мицелия существенно влияет на продуктивность культуры и варьирует от объемной хлопьевидной массы до плотных пеллетов величиной от 0,1 мм до 10 мм [1]. Образование той или иной формы мицелия зависит от физико-химических условий питательной среды. На твердых поверхностях гифы микромицетов растут линейно без скручивания их в пеллеты, образуя «пленку». В глубинных же условиях роста такая пленка формирует рыхлую нитчатую структуру, хорошо доступную питательным веществам и кислороду. Мы иммобилизовали такую структуру на носителе с использованием адсорбционных материалов [2, 3]. В условиях иммобилизации на подложке и роста в жидкой питательной среде микромицеты образуют рыхлую нитчато-губчатую структуру мицелия, хорошо доступную питательным веществам и кислороду.

Для иммобилизации микроорганизмов мы использовали наиболее дешевый и простой метод адсорбционной иммобилизации, исключающий применение токсичных реактивов. Данная работа посвящена длительному культивированию *Aspergillus awamori* 1-8/2 – продуцента пектинрасщепляющих ферментов в иммобилизованном состоянии и оценке ферментативной активности на разных питательных средах.

Материалы и методы исследований

Объектом исследований служила культура *Aspergillus awamori* 1-8/2. Выращивание микромицетов рода *Aspergillus* проводили двумя методами – традиционным методом свободными клетками в периодических условиях роста и иммобилизованными клетками в глубинных условиях роста по методике, разработанной Блиевой Р.К. с использованием лабораторного аппарата. Определение полигалактуроназной (ПГ) и полиметилгалактуроназной (ПМГ) активностей проводили вискозиметрическим методом [4]. В качестве субстрата были использованы 1% раствор пектовой кислоты и 1% раствор высокоэтирифицированного яблочного пектина. Определение снижения вязкости субстратов проводили в сухом вискозиметре, погруженном в термостат при температуре 40°C. Реакционная смесь состояла из 5 мл субстрата, 0,5 мл 0,1 М ацетатного буфера с рН 4,6 и 0,5 мл культуральной жидкости. Определение снижения вязкости проводили с интервалом 2 мин. 1%

пектовую кислоту готовили следующим образом: навеску пектовой кислоты медленно всыпали при тщательном перемешивании на магнитной мешалке в стакан с дистиллированной водой и из бюретки по каплям при перемешивании добавляли 1М раствор гидроксида натрия для доведения раствора до pH 4,0. Полученный раствор пектовой кислоты количественно перенесли в мерную колбу на 100 мл, довели до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивали и фильтровали через два слоя марли на воронке Бюхнера. Раствор субстрата использовали в день приготовления. 1%-ный раствор высокоэтерифицированного яблочного пектина готовили следующим образом: навеску пектина, взятую с таким расчетом, чтобы в 250 мл раствора было 2,5 г чистого пектина, который тонкой струей всыпали при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке в коническую колбу вместимостью 300 мл, куда предварительно наливали около 130 мл дистиллированной воды. Раствор перемешивали в течение 4 часов на мешалке при комнатной температуре. По истечении этого времени в раствор добавляли при перемешивании раствор аммиака для установления pH 4,0. Затем объем раствора довели дистиллированной водой до 250 мл, тщательно перемешивали и профильтровывали через два слоя марли на воронке Бюхнера. Раствор пектина готовили не менее чем за 4 часа до проведения анализа.

За единицу полигалактуроназной и полиметилгалактуроназной активности принимали такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1% пектовой кислоты или 1% яблочного пектина со снижением вязкости раствора за 1 мин. при 35-40°C.

Результаты и их обсуждение

На уровень биосинтеза ферментов микромицетами влияют не только оптимальные источники углерода, азота и минеральные вещества питательной среды, но и метод их культивирования. Для получения гидролитических ферментов, в том числе и пектинрасщепляющих, используются методы твердофазного, поверхностного и глубинного культивирования продуцентов ферментов. Твердофазное культивирование можно определить как процесс, при котором рост микроорганизмов и образование продуктов происходит на твердых субстратах [5, 6]. Для этого метода культивирования используют твердую или пастообразную среду. Твердофазное культивирование продуцентов ферментов на средах с такими субстратами позволяет производить не только ферменты, но и утилизировать отходы различных производств [7]. Помимо твердофазного, существует и поверхностный метод ферментации на жидких субстратах, который реализуется в кюветах или колбах со средой. При этом культура растет в виде пленки или твердого слоя на поверхности жидкой среды.

Лучшие условия для образования пектолитических ферментов создаются в глубинной культуре, так как для биосинтеза ферментов большое значение имеет аэрация питательной среды. Обеспечение микробной клетки кислородом достигается интенсивным механическим перемешиванием среды на качалке, а также количеством подаваемого воздуха в аппарат на единицу объема питательной среды в единицу времени. Соотношение этих параметров может иметь регуляторное значение.

Сравнительный анализ влияния различных способов культивирования микромицетов на синтез пектингидролаз показал выработку ферментов как при глубинном, так и при поверхностном выращивании грибов [8]. Было показано, что в последнем случае грибы растут медленнее, что влияет на их биосинтетическую способность. Глубинное культивирование микроорганизмов может осуществляться в периодическом и непрерывном процессе. Периодический процесс характеризуется ростом микроорганизмов в ограниченном объеме питательной среды без возможности ее замены, что приводит к низкой физиологической активности культуры. Непрерывное же культивирование позволяет стабилизировать параметры среды и физиологическое состояние микроорганизма в силу постоянного притока свежей среды и оттока культуральной жидкости.

Глубинное культивирование повсеместно применяется как на производстве, на заводах по получению различных биологически активных веществ, так и в научно-исследовательских учреждениях во всем мире [9]. Как нами было установлено, этот метод неэффективен и многозатратен, так как при глубинном культивировании мицелиальных микроорганизмов апикальный характер их роста обуславливает образование массы мицелия, растущего в форме шариков (пеллетов). При такой структуре роста продуцентам мало доступны питательные вещества среды и

кислород. Лучший доступ кислорода и питательных веществ осуществляется при поверхностном культивировании продуцента, когда гифы микромицетов растут линейно без скручивания в пеллеты, образуя пленку. Поэтому мы иммобилизовали такую структуру на носителе с использованием адсорбционных материалов и культивировали ее в глубинных условиях роста на жидких питательных средах. В условиях иммобилизации на подложке образуется рыхлая нитчато-губчатая структура мицелия, хорошо доступная кислороду и питательным веществам, которая способна длительно расти на носителе, не вымываясь из системы и продуцировать целевые ферменты. В периодических же условиях глубинная культура способна лишь один раз давать продукцию на 3-5 сутки выращивания и на более низком уровне [10].

Таким образом, нами разработан новый метод культивирования мицелиальных микроорганизмов, сочетающий выращивание продуцентов поверхностно на подложке в иммобилизованном состоянии и культивирование их глубинным методом длительное время с заменой питательной среды и многократным получением целевых ферментов. Для получения ферментов в производственных условиях необходимо изыскание путей удешевления процесса биосинтеза. Одним из таких способов является подбор недефицитной питательной среды для биосинтеза ферментов на основе отходов того или иного производства. При получении фруктово-овощных соков отходом производства является жом, который богат моно- и полисахаридами, органическими кислотами, аминокислотами, витаминами и минеральными солями. Приготовленный на его основе водный экстракт, из расчета 200 г сухого жома на 1 литр воды при настаивании в течение 6-8 часов при 70°C, является источником необходимых углеводов.

Для отработки недефицитной питательной среды культивирование проводили на основе яблочно-морковного и яблочного жома без добавления синтетических источников углерода и азота. Как видно из представленных на рисунках 1–3 данных, биосинтез пектинрасщепляющих ферментов проходит более активно на среде с яблочно-морковным жомом, на котором культивирование проводили в течение 62 суток при использовании недефицитной питательной среды. Замену среды и получение активной культуральной жидкости делали каждые 2-3 суток. В течение первых 9-10 суток культивирования в процессе выращивания было установлено, что отобранная активная культура *Aspergillus awamori* 1-8/2 хорошо иммобилизуется на носителе и имеет высокую продуктивность. Максимум образования ферментов приходился на 6, 9, 15, 18, 26, 32 и т.д. сутки с синтезом ПМГ – от 46,3% до 75,24% и ПГ – от 47,1% до 75,05% (рисунок 3).

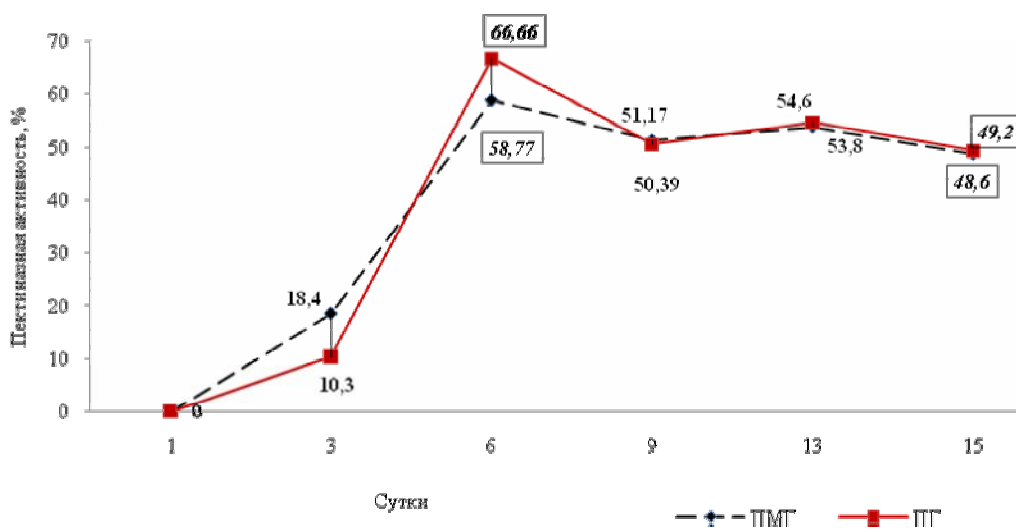


Рисунок 1 – Динамика образования пектинрасщепляющих ферментов иммобилизованной культурой *Aspergillus awamori* 1-8/2 на среде с яблочным жомом

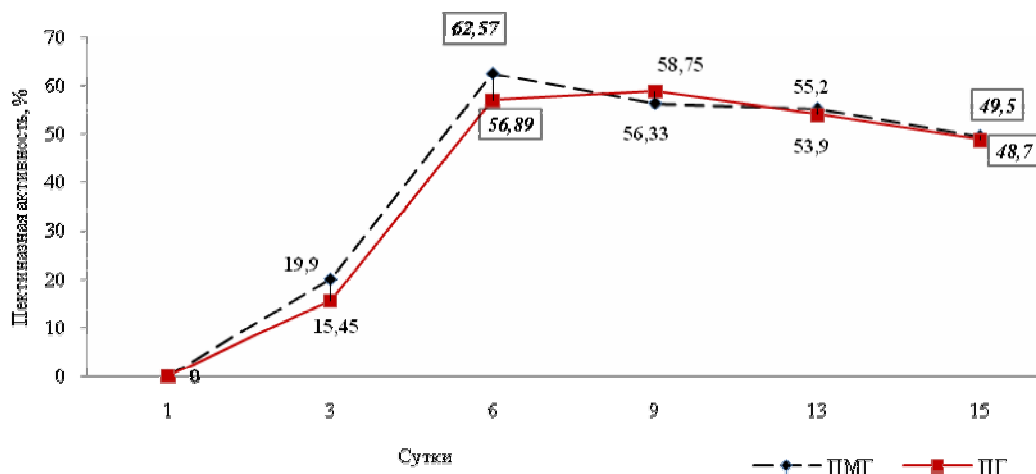


Рисунок 2 – Динамика образования пектинрасщепляющих ферментов иммобилизованной культурой *Aspergillus awamori* 1-8/2 на синтетической оптимизированной питательной среде

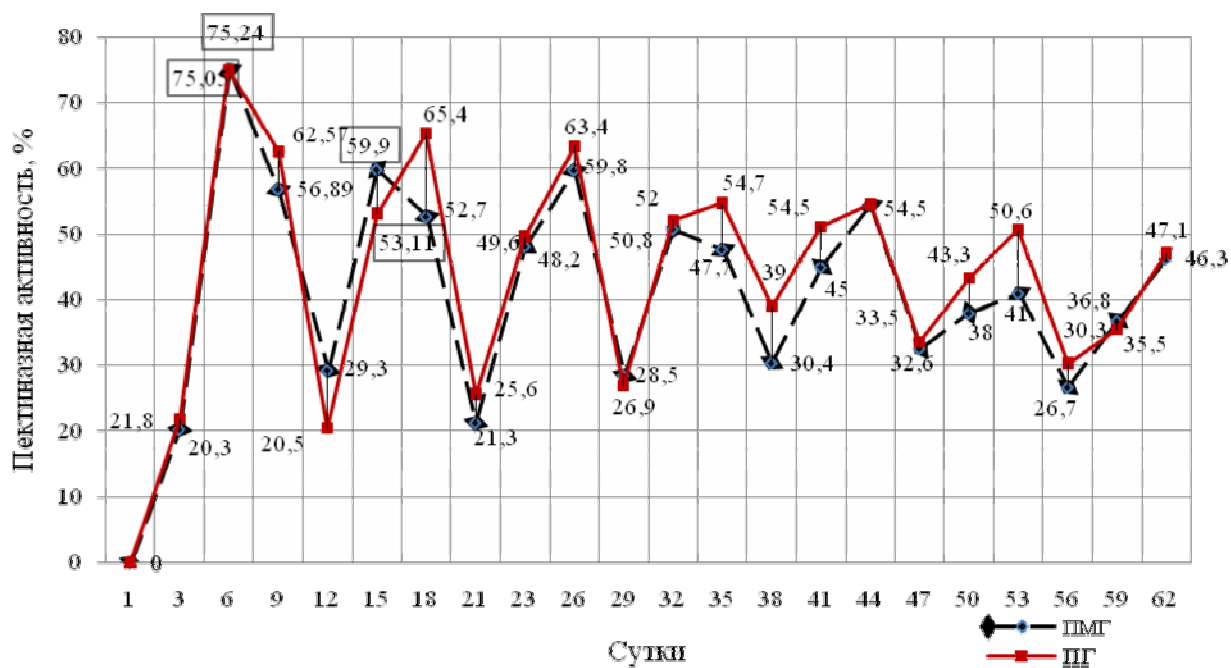


Рисунок 3 – Динамика образования пектинрасщепляющих ферментов культурой *Aspergillus awamori* 1-8/2 на яблочно – морковном жоме

Благодаря использованию предложенного устройства для культивирования нитчато-губчатого иммобилизованного мицелия процесс биосинтеза ферментов отличался от традиционного метода культивирования – как по структуре роста мицелия и длительности культивирования, так и по ферментообразованию. В условиях же периодического культивирования свободных клеток максимум образования ферментов наблюдается на 3 сутки (33,34% – ПГ; 27,63 – ПМГ), после чего активность падает, что связано с лизисом культуры.

Таким образом, в процессе длительного культивирования культура сохраняет ферментативную активность в течение длительного времени (62 и более суток), обеспечивается многократность использования первоначально иммобилизованной культуры, экономится сырье на приготовление сред и посевного материала, упрощаются процессы выделения фермента за счет того, что культуральная жидкость не требует фильтрации вследствие иммобилизации биомассы на подложке.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 John S. Pirt Principles of Microbe cell cultivation. Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne, 1978.
- 2 Botella C., I de Ory, Webb C., Cantero D., Blandino A. Hidrolytic enzyme production by *Aspergillus awamory* on grape pomace // J. Biochem Eng. – 2005. – Vol. 26. – P. 100-106.
- 3 Kutines A., Belafi-Bako K., Kabiri-Badr A., Toth L., Gubicza L., Webb C. Enzymatic hydrolysis of polysaccharides hydrolysis of starch by an enzyme complex from fermentation by *Aspergillus awamory* // Trans. I ChemEC, 79, 2001. – P. 41-45.
- 4 Miller G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31: 426-432.
- 5 Renge V.C., Khedkar S.V., Nikita R. Nandurkar Enzyme synthesis by fermentation method: a review // Sci. Revs. Chem. Commun. – 2012. – Vol. 2, N 4. – P. 585-590.
- 6 Muhammad Nasir Iqbal, Optimization of growth conditions for acidic protease production from *Rhizopus oligosporus* through solid state fermentation of Sunflower meal // Int. J. Agri. Biolog. Sci. – 2010. – Vol. 2. – P. 521-527.
- 7 Suganthi R., Benazir J.F., Santhi R., V. Ramesh Kumar, Anjana Hari, Nitya Meenakshi, Nidhiya K.A., Kavitha G., Lakshmi R. Amylase production by *Aspergillus niger* under solid state fermentation using agroindustrial waste. – 2011. – Vol. 3, N 2. – P. 782-789
- 8 Gamarra N.N., Villena G.K. Cellulase production by *aspergillus niger* in biofilm, solid state and submerged fermentation // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – Vol. 87. – P. 545-551.
- 9 Irfan M., Nadeem M. Submerged cultivation of *Aspergillus niger* on pretreated sugarcane bagasse // World J. of Agricultural sciences. – 2010. – Vol. 6, N 4. – P. 466-472.
- 10 Лобанок А.Г. Биотехнология микробных ферментов // Наука и инновации. – 2011. – № 1(95). – С. 66-69.

REFERENCES

- 1 John S. Pirt Principles of Microbe cell cultivation. Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melbourne, 1978.
- 2 Botella C., I de Ory, Webb C., Cantero D., Blandino A. Hidrolytic enzyme production by *Aspergillus awamory* on grape pomace. J. Biochem Eng. 2005. Vol. 26. P. 100-106.
- 3 Kutines A., Belafi-Bako K., Kabiri-Badr A., Toth L., Gubicza L., Webb C. Enzymatic hydrolysis of polysaccharides hydrolysis of starch by an enzyme complex from fermentation by *Aspergillus awamory*. Trans. I ChemEC, 79, 2001. P. 41-45.
- 4 Miller G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31: 426-432.
- 5 Renge V.C., Khedkar S.V., Nikita R. Nandurkar Enzyme synthesis by fermentation method: a review. Sci. Revs. Chem. Commun. 2012. Vol. 2, N 4. P. 585-590.
- 6 Muhammad Nasir Iqbal, Optimization of growth conditions for acidic protease production from *Rhizopus oligosporus* through solid state fermentation of Sunflower meal. Int. J. Agri. Biolog. Sci. 2010. Vol. 2. P. 521-527.
- 7 Suganthi R., Benazir J.F., Santhi R., V. Ramesh Kumar, Anjana Hari, Nitya Meenakshi, Nidhiya K.A., Kavitha G., Lakshmi R. Amylase production by *Aspergillus niger* under solid state fermentation using agroindustrial waste. 2011. Vol. 3, N 2. P. 782-789
- 8 Gamarra N.N., Villena G.K. Cellulase production by *aspergillus niger* in biofilm, solid state and submerged fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2008. Vol. 87. P. 545-551.
- 9 Irfan M., Nadeem M. Submerged cultivation of *Aspergillus niger* on pretreated sugarcane bagasse. World J. of Agricultural sciences. – 2010. Vol. 6, N 4. P. 466-472.
- 10 Lobanok A.G. Biotehnologija mikrobnih fermentov. Nauka i innovacii. 2011. № 1(95). S. 66-69.

Резюме

Р. К. Блиева, Ж. Б. Сүлейменова, Ж. Қ. Рахметова, А. Е. Нұрлыбаева, Ж. Қ. Садуаева

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

ПЕКТИНЫДЫРАТУШЫ ФЕРМЕНТТЕРДІҢ ПРОДУЦЕНТІ –
Aspergillus awamori 1-8/2-НІ ҰЗАҚ МЕРЗІМДЕ ДАҚЫЛДАУ

Мицелийлі микроорганизмдерді тереңде өсіру жағдайында төсенішке иммобилизацияланған күйде дақылдаудың еркін клеткаларды пеллет түрінде мерзімді өсіру дәстүрлі әдісіне карағанда артықшылықтары көрсетілген. Ұзақ мерзімге өсіру кезінде продуценттерді дақылдау мерзімі 20 есеге артады, белсенді түрде фермент түзу кезеңі ұзарады, бастапқы иммобилизацияланған культураны көп қайтара қолдану қамтамасыз етіледі. Сонымен қатар қоректік орталарды және егу материалын дайындауға шикізат үнемделеді, биомасса төсенішке иммобилизацияланғандықтан дақылдық сұйықтықты фильтрациялау қажет емес. Микромицеттерді иммобилизациялаудың осы артықшылықтары ферменттердің биосинтезі процесіне біршама әсер етеді, сонымен қатар өнімнің өзіндік құнының төмендеуіне әкелуі мүмкін.

Тірек сөздер: пектиныдыратушы ферменттер, микромицеттер, селекция, ұзақ мерзімге дақылдау, иммобилизация.

Summary

R. K. Bliyeva, Zh. B. Suleimenova, Zh. K. Rakhmetova, A. E. Nurlybaeva, Zh. K. Saduyeva

(RSE «Institute of Microbiology and Virology» KH MES RK, Almaty, Kazakhstan)

LONG-TERM CULTIVATION
OF *Aspergillus awamori* 1-8/2-PECTIN-DEGRADING ENZYMES PRODUCER

The advantage of the cultivation of filamentous microorganisms immobilized on a substrate in deep growth conditions comparative to the traditional periodic method of growing free cells in the form of pellets was shown. During long-term cultivation periods of fungal producers increase by 20 times, as well as the stage of active enzymes production, which provides reusable initially immobilized culture. In addition, there is a saving in raw materials and preparation of medium, simplification of the processes isolation of the enzyme by the fact that the culture liquid does not require filtration due to immobilization of biomass on substrate. The system has only vegetative mycelium. All these benefits of micromycetes, immobilization can significantly impact the overall economy and culture of enzymes biosynthesis, and dramatically reduce the cost of the product

Keywords: pectin degrading enzymes, micromycetes, selection, long-term cultivation, immobilization.

Поступила 26.08.2014г.

УДК 579:576.616

*Н. Н. ГАВРИЛОВА, И. А. РАТНИКОВА, К. БАЯКЫШЕВА,
З. Ж. ТУРЛЫБАЕВА, Л. А. КОШЕЛЕВА, Р. И. КАПАНОВА*

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

**МЕХАНИЗМ МИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ
LACTOBACILLUS SALIVARIUS 8d В ОТНОШЕНИИ БРУЦЕЛЛ**

Аннотация. Антимикробные комплексы из штамма молочнокислых бактерий *Lactobacillus salivarius* 8d имеют сложный состав и содержат компоненты как белковой природы, так и небелковой, представленные в основном сурфактантами – жирными кислотами и их производными, активные в отношении бруцелл.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, антагонистическая активность, антимикробный спектр действия, бруцеллы, испытания на мышах.

Тірек сөздер: сүт қышқылы бактериялары, антагонистік белсенділік, микробқа қарсы спектр әрекеті, бруцеллалар, тышқандарда сынау.

Keywords: lactobacillus, antagonistic activity, antimicrobial spectrum of action, brucella, tests on mice.

Изучению антагонистической активности лактобактерий посвящено большое количество работ. Исследования, главным образом, касаются вопросов борьбы с вредной и патогенной микрофлорой кишечника человека и животных.

Нами впервые (Гаврилова, Грушина, Лукашева, 1998) выявлен штамм молочнокислых бактерий ингибитор роста бруцелл. Проверка антагонистической активности отобранного штамма лактобактерий в отношении бруцелл *in vivo* на белых мышах показала его высокую лечебную эффективность, не уступающую антибиотик гентамицину [1]. Это дает основание полагать, что молочнокислые бактерии могут найти широкое применение также при лечении внекишечной инфекции, в том числе бруцеллеза.

В настоящее время описано значительное количество специфических продуктов обмена веществ молочнокислых бактерий, обладающих антибактериальным действием и идентифицированных как полипептидные соединения. Так, из культуры *Streptococcus lactis* выделен полипептидный антибиотик низин с молекулярной массой 3500 [2]. Лактоцин, образуемый *Lactobacillus acidophilus*, представляет собой пептид 2,5 кД, состоящий примерно из 56 аминокислот

(Corsetii, Gobetii, Smacohi, 1996). Полипептидную природу имеют и антимикробные вещества из ряда других молочнокислых бактерий [3, 4].

Среди метаболитов молочнокислых бактерий, обладающих антибактериальным действием, обнаружены и летучие продукты. Так, антагонизм *Streptococcusdiacetylactis* связывают с наличием диацетила и уксусной кислоты [5]. Антагонизм *Streptococcusfaecium* кишечной палочке зависит от синтеза метилового эфира 3,7,12-тригидро-24-холановой кислоты [6].

О природе антибиотических веществ лактобактерий, активных в отношении возбудителей заболеваний, не связанных с желудочно-кишечным трактом, практически ничего не известно.

В связи с изложенным, в задачу исследований входило выделение из биомассы и культуральной жидкости молочнокислых бактерий *Lactobacillus salivarius* 8d антибиотических комплексов и их первичная идентификация и определение влияния отдельных компонентов антимикробного комплекса на рост и активность бруцелл.

Материал и методы

Для выделения и первичной идентификации антибиотических веществ, продуцируемых штаммом *L. salivarius* 8d, проводили его культивирование в 30 л среды MRS при T-37°C в течение 24 ч. Затем культуральную жидкость центрифугировали со скоростью 35000 об/мин в течение 20 мин, собирали биомассу и заливали ее в соотношении 1:9 (биомасса и экстрагирующие вещества) следующими растворителями:

1. Ацетоном – в случае определения небелковой фракции.
2. 30%-ным раствором этанола, содержащим 0,5% уксусной кислоты – в случае определения белковой фракции.

Экстрагирование проводили в условиях холодильника в течение 12 ч.

Затем экстракт фильтровали и упаривали досуха на роторном испарителе, а сухой остаток растворяли этанолом в случае выделения небелковой фракции, а в случае выделения белковой фракции – смесью этанола и уксусной кислоты (30 и 0,5%). Концентрат наносили на пластики силуфола марки UV-254 (Avalier, ЧССР) и хроматографировали в 3-х системах растворителей:

1. хлороформ:метанол в соотношении 10:1;
2. бутанол:вода:уксусная кислота в соотношении 40:10:50;
3. вода:ацетон:уксусная кислота в соотношении 50:40:10.

После разделения препарата выявляли активные зоны на силуфолебио автографически с применением бруцелл штаммов *Brucellamelitensis* 16 м, *Brucellasuis* 1330 и *Brucellasp.* 520.

Активные компоненты, элюированные с хроматограмм этанолом, исследовали на газовом хроматографе Autosistem XL с масс-спектрометрическим детектором фирмы PerkinElmer на капиллярной колонке PE-5msдлиной 25 м, внутренним диаметром 0,25 мм. Температурная программа: 5 мин выдержки при 40 °С, подъем температуры со скоростью 10°/мин до 200°C, подъем температуры со скоростью 6°/мин до 260°C, подъем температуры со скоростью 4°/мин до 280°C, выдержка 9 мин. Скорость газа носителя-гелия – 1,5 мл/мин. Температура детектора 280°C. Величина пробы – 2µl, делитель потока 1/20. Для идентификации использовалась библиотека масс-спектров Nist98.

Электрофоретические исследования белковых фракций проводили в полиакриламидном геле 2-2,5 ч при токе 150V; 25 mA. Маркерная краска – бромфеноловыйсиний (0,2%) в 20% сахарозе. Окраска готовой пластинки -Кумасси (0,05%) в течение 2 ч, отмывка – 15 ч. В качестве маркеров использовали: 1 – albuminbovin с молекулярной массой 67 кДа, 2 – albuminegg 45 кДа, 3 – chymotrypsinogen A 25 кДа, 4 – myoglobinequin 7,8 кДа, 5 – cytochrom C 12,4кДа.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что после разделения белковой фракции на силуфоле в системе растворителей бутанол:вода:уксусная кислота (40:10:50) выявляется вещество с Rf-0,44, активное в отношении *B. melitensis* 16м и с Rf-0,32 -активное в отношении *Brucella sp.*520.

В системе растворителей бутанол:ацетон:уксусная кислота (50:40:10) белковая фракция не разделилась на компоненты.

Фракция, выделенная из биомассы ацетоном, после хроматографирования в системе растворителей хлороформ:метанол (10:1) разделена на компоненты. Активными в отношении *B. suis* 1330 являются два компонента с Rf-0,51 и Rf-0,93, в отношении штамма 520 – три компонента с Rf-0,94; 0,91 и 0,38, в отношении *B. melitensis* 16 м – также три компонента Rf-0,88; 0,52 и 0,03.

Для дальнейших исследований антибиотические вещества, образуемые штаммом, экстрагировали из биомассы системой растворителей (вода: ацетон:уксусная кислота, 5:4:1) в соотношении 1:9. Затем экстракт фильтровали и упаривали досуха на роторном испарителе, а сухой остаток растворяли 30%-ным раствором этанола, содержащим 0,5% уксусной кислоты, с последующей фильтрацией. Концентрат наносили на пластинки Silufol и хроматографировали в системе растворителей (бутанол:вода:уксусная кислота, 4:1:5) (образец № 1).

Оставшуюся культуральную жидкость после отделения биомассы подвергали лиофильному высушиванию. Затем полученную порошковую массу доводили до объема 200 мл дистиллированной водой. Антибиотические вещества, образуемые штаммом, экстрагировали из надосадочной жидкости бутанолом в течение 24 ч. Бутанольный экстракт упаривали досуха на роторном испарителе, а сухой остаток растворяли смесью уксусная кислота и этанол в соотношении 0,5:30 – с последующей фильтрацией. Концентрат наносили на пластинки Silufol и хроматографировали в системе растворителей: образец № 2 (бутанол:вода:уксусная кислота, 4:1:5), образец № 3 (бутанол:уксусная кислота:вода, 4:1:5).

С помощью биоавтографии в отношении *B. melitensis* 16 м выявлены в образце №1 активные компоненты с Rf-0,8 и 0,44, которые элюировали с хроматограмм этанолом и исследовали на газовом хроматографе Autosistem XL с масс-спектрометрическим детектором фирмы PerkinElmer. Установлено, что компонент с Rf-0,80 содержит в своем составе дибутилфталат (12,9%) и углеводороды: н-гексадекан (29,2%), н-пентадекан (22,5%), н-тетрадекан (9,1%), н-ундекан, н-октадекан, генийкозан (3,5-3,9%) и др. Всего 11 углеводородов. В препарате Rf-0,44 обнаружены те же компоненты, но в других процентных соотношениях. В преобладающем количестве (45,3%) в нем содержится дибутилфталат, а среди углеводородов преобладают н-гексадекан (20%) и н-пентадекан (16,2%). Остальные вышеперечисленные углеводороды представлены от 5,5 до 2,9%.

Таким образом, в обоих препаратах, полученных из биомассы экстракцией системой растворителей вода-ацетон-уксусная кислота (5:4:1), содержится в значительных количествах дибутилфталат (45 и 13%), а также углеводороды от н-ундекана до н-генийкозана с преобладанием н-тетра-, н-пента и н-гексадекана.

Образец №2, полученный из культуральной жидкости, активности в отношении *B. melitensis* 16 не проявил. В отношении штамма 544 было выявлено 2 активных компонента с Rf-0,35 и 0,61. В образце № 3 выявлен компонент с Rf-0,41, подавляющий рост *B. melitensis* 16 и Rf-0,46 – активный в отношении штамма 544. Установлено, что данные компоненты имеют белковую природу.

В дальнейшем проведены исследования по изучению антибиотических комплексов с Rf 0,8 и 0,2 с наибольшей бактерицидной активностью, полученных из биомассы того же штамма, экстракцией ацетоном, растворением сухого остатка в этаноле после удаления ацетона на роторном испарителе, тонкослойной хроматографией в системе хлороформ-метанол (10:1) с последующей биоавтографией.

Хроматографирование препаратов на жидкостном хроматографе Милихром (колонка силасорб 600, элюент – этанол) показало, что в образце с Rf 0,2 преобладает одно соединение, а в образце с Rf 0,8 имеется целый ряд соединений: пик 1 с удерживанием 170 л, главный в образце с Rf 0,2, пик 2 с удерживанием 220 л, примерно равный по величине первому пику, и затем группа пиков со значительно большим временем удерживания.

Электронные спектры основного соединения образца с Rf-0,2 (пик 1 у образца с Rf 0,8) и отделяющегося от него второго соединения – пик 2 образца с Rf 0,8 очень сходны. В спектре первого пика имеется два максимума с 280 нм и 234 нм примерно равной интенсивности. В спектре второго пика также два максимума с 208 и 234 нм, но интенсивность второго максимума несколько ниже, чем первого.

Исследование образцов на газожидкостном хроматографе Хром-5 на колонке метилсиликон на хроматоне N Супер показало, что они близки по составу и в них преобладает пик с временем удерживания 11 минут (температура колонки 220°C, давление газа-носителя (аргона) на входе в колонку 1,05 атм). ИК-спектры образцов также были качественно сходны: наиболее интенсивные

колебания имелись в областях 1060-1110, 1300-1500, 1600-1700 и очень интенсивные в области 3300-3400 см⁻¹. На основании корреляции УФ- и ИК-спектров можно предположить наличие в образцах фрагментов сложных эфиров, первичных и вторичных амидов, соединений с сопряженной карбонильной группой и, возможно, наличие сорбированной воды.

Дальнейшие исследования были проведены на приборе Хромасс, представляющем комбинацию жидкостного хроматографа с масс-спектрометром. На основании пиков масс-спектров и сопоставления их с масс-спектрами известных соединений, имеющихся в банке данных масс-спектров прибора, образец с Rf 0,2 состоит из смеси двух соединений: основное с временем удерживания 16 мин. представляет ди-норм-бутил- или ди-изо-бутил-фталат и второе с временем удерживания 25,5 мин., присутствующее в небольшом количестве, - ди-норм-октил- или ди-изо-октил-фталат. Для сравнения был синтезирован дибутилфталат с нормальной алкильной цепью: ди-н-бутилфталат. Газожидкостная хроматография показала, что основной пик хроматограммы образца с Rf 0,2 действительно является идентичным пиком этого соединения. Таким образом, можно считать твердо установленным, что главным соединением этого образца является дибутилфталат.

Образец с Rf 0,8 – сложная смесь соединений, в которой, наряду с соединениями с временем удерживания 16 и 25,5 минут, преобладающими являются карбоновые кислоты и в меньшей степени их эфиры. Этот образец был исследован также на газовом хроматографе Autosystem XL фирмы Perkin Elmer. Установлено, что он в преобладающем количестве содержит тетрадекановую кислоту, этиловый эфир тетрадекановой кислоты, метиловый эфир гексадекановой (пальмитиновой) кислоты, олеиновую кислоту, октадекановую (стеариновую) кислоту, этиловый эфир октадекановой кислоты. В малых количествах присутствует дибутилфталат. Из углеводов выявлены 2-фенилундекан, 5-фенилундекан, 2,3,4,5,6 и 7-фенилтридеканы, 2-фенилтетрадекан и 2-фенилдодекан.

Сопоставление результатов данного опыта с предыдущим, в котором антибиотические комплексы экстрагировали из биомассы системой вода-ацетон-уксусная кислота (5:4:1), показало, что наиболее полное извлечение активных компонентов происходит ацетоном (таблица).

Состав антимикробных комплексов, извлеченных из биомассы различными способами

Способ выделения антимикробных компонентов	Rf пробы	Состав пробы
Экстракция системой растворителей Вода-ацетон-уксусная кислота (5:4:1), Растворение сухого остатка после упаривания 30%-ным этанолом в 0,5%-ной уксусной кислоте, тонкослойная хроматография в системе бутанол-вода-уксусная кислота (4:1:5) с последующей биоавтографией	0,8	Дибутилфталат – 12,4%, н-гексан – 29,2%, н-пентадекан – 22,5%, н тетрадекан – 9,1% н-ундекан – 3,5%, н-октадекан – 3,6%, генийкозан – 3,9%
	0,44	Дибутилфталат – 45,3% н-гексадекан – 20%, н-пентадекан – 16,2%. Остальные вышеперечисленные углеводороды составляют от 2,9 до 5,5%
Экстракция ацетоном, растворение сухого остатка в этаноле после удаления ацетона на ротормном испарителе, тонкослойная хроматография в системе хлороформ-метанол (10:1) с последующей биоавтографией	0,2	Дибутилфталат – 85%, диоктилфталат или диизоактилфталат – 10%, остальное – не идентифицированные компоненты
	0,8	Молочная кислота, тетрадекановая кислота, этиловый эфир тетрадекановой кислоты, метиловый эфир гексадекановой (пальмитиновой) кислоты, олеиновая кислота, октадекановая (стеариновая кислота), этиловый эфир октадекановой кислоты – до 90%, дибутилфталат – 4%, остальное – 2 – фенилундекан, 2,3,4,5,6 и 7- фенилтридеканы и 2 – фенилдодекан

Таким образом, антибиотические комплексы *L.salivarius* 8d небелковой природы представлены жирными кислотами и их производными, в основном, эфирами.

Определена минимальная подавляющая концентрация веществ, выявленных в составе антибиотических комплексов штамма *L.salivarius* 8d: дибутилфталата, молочной кислоты, этилового и метилового эфиров молочной кислоты, дипептида, олеиновой кислоты, L-аланина, этилового эфира линоленовой кислоты, линоленовой, пальмитиновой и пропионовой кислот в отношении бруцелл. Испытывали концентрации веществ от 5 до 500 мкг/мл. Наиболее активными соединениями являются линоленовая кислота, подавляющая рост *B. suis*1330 в концентрации 10 мкг/мл, *B. melitensis*16 м – 100 мкг/мл и В, abortus544 – 250 мкг/мл. Все тест-культуры подавляют в концентрации 250 мкг/мл метиловый эфир молочной кислоты и олеиновая кислота, в концентрации 500 мкг/мл L-аланин, этиловый эфир молочной кислоты. Дибутилфталат в концентрации 250 мкг/мл подавляет рост двух тест-культур: *B. melitensis* 16м и *B. abortus* 544. Этиловый эфир молочной кислоты и пропионовая кислота (100 мкг/мл) ингибируют рост лишь *B. melitensis* 16 м.

Проведены электрофоретические исследования белковых фракций, выделенных из биомассы и культуральной жидкости *L.salivarius* 8d .

Исследованы следующие образцы: № 1 и № 2 – компоненты с Rf 0,32 и 0,44, соответственно, выделенные из биомассы 30%-ным этанолом в 0,5%-ной уксусной кислоте. Тонкослойная хроматография проведена в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1); №3 и №4 – компоненты с Rf 0,35 и 0,61, соответственно, экстрагированные из культуральной жидкости бутанолом, тонкослойная хроматография проведена в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1); №5 и №6 – компоненты с Rf 0,41 и 0,46, выделенных также из культуральной жидкости, но с другим соотношением растворителей при хроматографировании (4:1:5).

Установлено, что во всех исследованных компонентах содержится по 3 белка с молекулярной массой 67, 53 и 14 кДа, которая рассчитана по калибровочной кривой, построенной на основании зависимости массы образца и Rf.

Таким образом, исследования показали, что антибиотические комплексы исследуемых молочнокислых бактерий имеют сложный состав и содержат компоненты как белковой природы, так и небелковой, представленные сурфактантами – жирными кислотами и их производными.

В настоящее время известны антибиотики-биосурфактанты: амфомицин, эндурацидин и глобимицин из стрептомицетов; циклоспорин из гриба триходермы; субтилиин и полимиксин из бацилл. Наиболее эффективным антибиотиком-биосурфактантом, продуцируемым бациллярными бактериями, является суфрактин, представляющий собой циклический липопептид.

В литературе мало сведений, касающихся синтеза молочнокислыми бактериями поверхностно-активных веществ и их биологической активности. Хотя, судя по имеющимся публикациям, лактобактерии могут продуцировать подобные вещества. Так, например, описаны противоопухолевые антихолестериновые препараты, содержащие липотейхоевую кислоту, выделенную из стрептококка (TuoogPeter, 1995). Из молочнокислых бактерий получены биосурфактанты, ингибирующие адгезивную способность патогенов (GregorBruceAndrew W., 2000), а также бактериоцин, представляющий собой протеин-липополисахаридный комплекс с молекулярной массой > 200,00 (Klaenhammer, 1988).

В связи с изложенным, нами изучена способность бактерий *L.salivarius* 8d продуцировать подобные вещества, обладающие биологической активностью.

Извлечение биологически активных фракций из культуральной жидкости бактерий проводили хлороформом (образец 1), из биомассы -сначала хлороформом (образец 2), затем смесью хлороформа и этанола в соотношении 1:2 (образец 3). После удаления растворителей на роторном испарителе остаток растворяли в 80%-ном этаноле. Концентраты хроматографировали на пластинах Сорбитол в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1) с последующей биоавтографией. Наличие в выделенных компонентах белков, липидов, углеводов устанавливали после обработки хроматограммингидрином, парами йода, антроном.

Установлено, что в хлороформенном экстракте из культуральной жидкости содержатся: белок с Rf 0,02; гликолипид с Rf 0,67; липид с Rf 0,85; полисахарид с Rf 0,4. Антагонистическая активность не выявлена ни у одного из перечисленных компонентов.

В образце №2, полученном из биомассы с помощью хлороформа, не обнаружено белков, липидов и углеводов. В образце № 3, полученном из биомассы путем экстракции смесью хлороформа и этанола, установлены гликопептид с Rf 0,1; белок с Rf 0,35; пептид-гликолипид с Rf 0,54;

липopeптид с Rf 0,66; гликопептид с Rf 0,78; гликолипид с Rf 0,72; липиды с Rf 0,81 и 0,94. Антагонистическая активность выявлена в компоненте с Rf 0,31, имеющем белковую природу.

Кроме того, исследовали состав водорастворимой фракции, полученной после отделения водной фазы от хлороформенного экстракта при извлечении липидов. В водорастворимой фракции определены вещества, окрашивающиеся нингидрином, с Rf 0,05; 0,25; 0,58; 0,65 и 0,74, а также липопептид с Rf 0,35. Антагонистической активностью обладает компонент с Rf 0,21-0,24, окрашивающийся нингидрином, но не дающий окраски с антроном и йодом.

Таким образом, антимикробные комплексы из штамма молочнокислых бактерий *Lactobacillus salivarius* 8d имеют сложный состав и содержат компоненты как белковой природы, так и небелковой, представленные в основном сурфактантами - жирными кислотами и их производными, активные в отношении бруцелл.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Grushina T., Gavrilova N., Ratnikova I. Co-trimoxazole plus *Lactobacillus* for treatment of experimental brucellosis // Abstr. 59th Annual Brucellosis Research conference. – Chicago, 2006. – P. 34.
- 2 Баранова И.П., Егоров Н.С. Низин-антибиотик-полипептид из МКБ *Streptococcus lactis*, его биосинтез, свойства и применение // В сб. антибиотики и их продуценты. – М.: Наука, 1975. С. 55-65.
- 3 Morovsky M., Pristas P. et al. A bacteriocin – mediated antagonism by *Enterococcus faecium* BC 25 against *Streptococcus bovis* // Microbiol Res. – 1998. – 153, № 3. – P. 277-281.
- 4 Herranz C., Mukhopadhyay S. et al. Biochemical and genetic evidence of enterocin P production by two *Enterococcus faecium* – like strains isolated from fermented // Curr. Microbiol. – 1999. – 39, № 5. – P. 282-290.
- 5 Гриневич А.Г. Молочнокислые бактерии. Селекция промышленных штаммов. – Минск, 1981. – 164 с.
- 6 Park Seung-Chum, Kim Chang-Iin, Uramoto Mazakazu. Antibacterial substances produced by *Streptococcus faecium* under anaerobic cultura // Bios, Biotechnol. and Biochem. – 1995. – 59, № 3. – P. 1996-1997.

REFERENCES

- 1 Grushina T., Gavrilova N., Ratnikova I. Co-trimoxazole plus *Lactobacillus* for treatment of experimental brucellosis. Abstr. 59th Annual Brucellosis Research conference. Chicago, 2006. P. 34.
- 2 Baranova I.P., Egorov N.S. Nizin-antibiotik-polipeptidiz MKB *Streptococcus lactis*, egbiosintez, svojstva i primenenie. V sb. antibiotiki i ihproducenty. M.: Nauka, 1975. S. 55-65.
- 3 Morovsky M., Pristas P. et al. A bacteriocin – mediated antagonism by *Enterococcus faecium* BC 25 against *Streptococcus bovis*. Microbiol Res. 1998. 153, № 3. P. 277-281.
- 4 Herranz C., Mukhopadhyay S. et al. Biochemical and genetic evidence of enterocin P production by two *Enterococcus faecium* – like strains isolated from fermented. Curr. Microbiol. 1999. 39, № 5. P. 282-290.
- 5 Grinevich A.G. Molochnokislye bakterii. Selekcija promyshlennyh shtammov. Minsk, 1981. 164 s.
- 6 Park Seung-Chum, Kim Chang-Iin, Uramoto Mazakazu. Antibacterial substances produced by *Streptococcus faecium* under anaerobic cultura. Bios, Biotechnol. and Biochem. 1995. 59, № 3. P. 1996-1997.

Резюме

Н. Н. Гаврилова, И. А. Ратникова, К. Баякышева,
З. Ж. Тұрлыбаева, Л. А. Кошелева, Р. И. Қапанова

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

LACTOBACILLUS SALIVARIUS 8D БРУЦЕЛЛАЛАРДЫҢ АРАҚАТЫНАСЫНДАҒЫ МИКРОБТЫҚ ӘРЕКЕТТІҢ ТЕТІПІ

Сүт қышқылы бактерияларына жататын *Lactobacillus salivarius* 8d штаммының бруцеллаға қарсы белсенділігі жоғары, әрі олардың микробқа қарсы кешенінің құрамы күрделі және олар негізінен сурфактанттардан, яғни табиғаты белокты әрі белоксыз, май қышқылдары мен олардың туындыларнан тұратын компоненттерден құралған.

Тірек сөздер: сүт қышқылы бактериялары, антагонистік белсенділік, микробқа қарсы спектр әрекеті, бруцеллалар, тышқандарда сынау.

Summary

N. N. Gavrilova, I. A. Ratnikova, K. Bayakisheva, Z. Zh. Turlybaeva, L. A. Kosheleva, R. I. Kapanova

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

THE MECHANISM OF MICROBIAL ACTION OF *LACTOBACILLUS SALIVARIUS* 8d AGAINST BRUCELLA

Antimicrobial complexes of lactobacillus of strain of *Lactobacillus salivarius* 8d, active again *Brucella*, have difficult composition. In biomasse of strain active components are educed as albuminous nature, so unalbuminous, presented by fat acids and their derivatives, mainly, by ethers. Active components from a cultural liquid have mainly albuminous nature. In albuminous factions from a cultural liquid and biomass it is educed for 3 albumens with molecular mass 67, 53 and 14 кDa.

Keywords: lactobacillus, antagonistic activity, antimicrobial spectrum of action, brucella, tests on mise.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 635.655:632.163:581.42/.49

С. В. ДИДОРЕНКО¹, Р. С. МАСОНИЧИЧ-ШОТУНОВА¹, Т. Е. ЛИ², Н. В. КУРБАТОВА³

(¹ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства»,
п. Алмалыбак, Казахстан, e-mail: Svetl_did@mail.ru,

²РГП «Институт биологии и биотехнологии растений», Алматы, Казахстан,

³Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан)

ВЫЯВЛЕНИЕ АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ СОРТОВ СОИ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ

Аннотация. Увеличение производства сои является одним из важнейших путей решения проблемы дефицита кормового и продовольственного белка в северных областях Республики Казахстан, где соя все еще не получила должного распространения. Одной из причин этого является отсутствие высокопродуктивных ультраскороспелых сортов, адаптированных к местным условиям, обладающих морозостойкостью в начальные периоды вегетации и повышенной засухоустойчивостью, поскольку выращивается в данном регионе без полива.

Растения сои обладают большим разнообразием морфологических, биохимических, физиологических и молекулярных приспособлений и ответов, для того, чтобы лучше перенести последствия стресса дефицита влаги, которые можно использовать для улучшения существующих сортов.

Для проведения анатомо-морфологического исследования структуры вегетативных органов были отобраны сортообразцы сои из мировой коллекции, обладающие признаками повышенной засухоустойчивости. Растительные образцы были взяты в период, когда растения находились в генеративном возрастном состоянии (фаза образования бобов), при этом растения выращивались в условиях дефицита влаги.

Отличительные признаки в покровной ткани листа были обнаружены у сорта Устя (Украина), которые заключаются в более выраженном опущении листовой пластинки, что позволяет отметить ксероморфизм структуры, в вязкости протоплазмы. В структуре стебля отмечен наиболее плотный слой кутикулы. Особенности корня у данного сорта явилось наличие среди паренхимных тонкостенных клеток ярко выраженных склеренхимных тяжей. Эти анатомо-морфологические особенности относятся к засухоустойчивому сорту Устя.

Ключевые слова: соя, засухоустойчивость, анатомо-морфологические признаки, ксероморфизм, мезофит.

Тірек сөздер: қытайбұршақ, құрғақшылыққа төзімділік, анатомиялық-морфологиялық белгілер, ксероморфизм, мезофит.

Keywords: soybean, drought, anatomical and morphological characteristics, xeromorphic, mesophyte.

Введение. Сое принадлежит важная роль в лечебно-профилактическом питании людей и в кормопроизводстве. Соя – поистине уникальное создание природы, ее семена содержат от 30 до 45% полноценного белка, 18–23% полувысыхающего масла, до 25% углеводов, полный набор основных витаминов.

Увеличение производства сои является одним из важнейших путей решения проблемы дефицита кормового и продовольственного белка в северных областях Республики Казахстан, где соя все еще не получила должного распространения.

Одной из причин этого является отсутствие высокопродуктивных ультраскороспелых сортов, адаптированных к местным условиям, обладающих морозостойкостью в начальные периоды вегетации и повышенной засухоустойчивостью, поскольку выращивается в данном регионе без полива.

Для формирования полноценного урожая сои требуется не менее 350-400 мм осадков, тогда как за вегетационный период сои в Северо-Казахстанской области, по многолетним наблюдениям, выпадает 152 мм осадков, в Актюбинской и Костанайской областях – 111 и 166 мм соответственно, Восточно-Казахстанской – 216 мм осадков.

Устойчивость к засухе – сложное явление, включающее жаростойкость, т.е. способность выносить перегрев, а также засухоустойчивость, как выносливость растений к обезвоживанию различной силы и длительности. Оба эти свойства находятся в тесной связи с коллоидно-химическими особенностями протоплазмы и характером обмена веществ в процессах онтогенеза [1].

Засуха оказывает глубокое влияние на все физиологические функции растений. При низкой влажности почвы и сухости воздуха расход влаги растением преобладает над поступлением ее в растение из почвы, в результате содержание воды в клетках растения падает, а рост его замедляется и даже полностью приостанавливается. Угнетение роста проявляется в уменьшении размеров растения и его частей, в частности в уменьшении размеров листьев. В силу этого уменьшается общее количество вырабатываемого растением органического вещества. Кроме того, под влиянием недостатка воды в листьях закрываются устьичные отверстия, вследствие чего нарушается воздушное питание растений. Под влиянием засухи нарушаются также нормальные функции протоплазмы, процессы распада получают перевес над процессами синтеза, и поэтому в клетках начинается усиленный переход крахмала в растворимые в воде сахара и распад белковых веществ, что ведет к остановке роста и снижению урожая. Нарушается также способность клеток всасывать и удерживать питательные вещества. Сильная и продолжительная засуха приводит к тому, что растения начинают увядать. Такое состояние бывает временным, если в почве еще имеется некоторое количество доступной для растений влаги, и оно за ночные часы восполняет потерянную днем воду. Если же в почве остается так мало воды, что растения уже не в состоянии ее использовать и не оправляются даже ночью, то завядание становится длительным. Временное завядание растения переносят без большого вреда, но все, же оно приводит к некоторой задержке роста и снижению урожая. Длительное завядание, распространяющееся постепенно на все ткани растения в силу отсасывания от них воды испаряющими ее листьями, влечет за собой повреждение корневых мочек, вследствие чего теряется необходимый для питания растений тесный контакт между корнями и почвой.

Засухоустойчивость обуславливается рядом физиологических, биохимических и анатомо-морфологических признаков. Важнейший физиологический признак – способность растения переносить даже значительный недостаток воды в клетках без заметного нарушения основных физиологических функций, а потому и без снижения урожая [2–4]. Эта способность обуславливается повышенной гидрофильностью коллоидных веществ протоплазмы растений, а также наличием в ней веществ защитного характера.

Из анатомо-морфологических признаков засухоустойчивости нужно, прежде всего, указать на глубокое проникновение в почву корневой системы, а также на наличие большего числа мельчайших корешков, что содействует лучшему использованию почвенной влаги. Другой признак засухоустойчивости – мелкоклеточность растений, обуславливающая более густое жилкование листьев и большее число устьичных отверстий на единицу листовой поверхности. Все эти особенности приводят к тому, что при достаточном водоснабжении засухоустойчивые растения обнаруживают энергичный фотосинтез, а также высокую транспирацию. При недостатке влаги устьица закрываются, и благодаря лучшему развитию покровных тканей засухоустойчивые растения резко снижают транспирацию, что и способствует лучшему перенесению ими засухи. Засухоустой-

чивость связана также по большей части с общим уменьшением листовой поверхности и увеличением отношения корневой системы к надземным органам.

Материалы и методы

Для проведения анатомо-морфологического исследования структуры вегетативных органов были отобраны 2 сорта сои из мировой коллекции: Устя (Украина) и К589109 (Россия), обладающие признаками повышенной засухоустойчивости. Данные сорта – ультраскороспелой группы (00) с периодом вегетации 85-95 дней, были выращены на опытных стационарах Казахского НИИ земледелия и растениеводства (Алматинская область, Карасайский район).

Растительные образцы для анатомического исследования были взяты в период, когда растения находились в генеративном возрастном состоянии (фаза образования бобов), при этом растения выращивались в условиях дефицита влаги.

Для изучения были отобраны листья среднего яруса растения и приготовлены анатомические препараты верхнего и нижнего эпидермиса листа – методом «реплик».

Изучение структурных особенностей стеблей проводилось на поперечных срезах средней части второго междоузлия. Изучение структуры корней отражено на поперечных срезах средней части корня. С помощью лезвия был сделан фиксированный материал и приготовлены временные препараты, которые были изучены при 10х-, 20х-, 40х- и 100х- увеличениях.

При изготовлении и описании препаратов использовались общепринятые методики в анатомии растений [5–7].

Результаты и обсуждение

По строению мезофилла, лист сои относится к дорзо-вентральному типу. Устьица имеются на обеих сторонах листа сои, что характеризует амфистоматный тип, причем на нижнем эпидермисе устьиц в два раза больше. На верхнем эпидермисе форма устьиц овальная у сорта К589109 (рисунок 1, *а*) и более округлая у сорта Устя (рисунок 1, *б*). В поле зрения микроскопа при увеличении 8х40 насчитывается в среднем около 8 устьиц у сорта К589109 и 4 устьица у сорта Устя. На нижнем эпидермисе форма устьиц овальная у сорта К589109 (рисунок 2, *а*) и округло-овальная у сорта Устя (рисунок 2, *б*); в поле зрения микроскопа при увеличении 8х40 насчитывается в среднем 15 – (К589109) и 10 – (Устя) устьиц.

Отмечено, что у сорта Устя есть признаки в покровной ткани листа, которые направлены на уменьшение испарения, причем морфологически уменьшена и поверхность листьев, а также более выражено опушение, не только на листовой пластинки, но и на стебле, что позволяет отметить наиболее выраженные черты ксерофитной структуры. На рисунках 2 и 4 видна выраженность большей вязкости протоплазмы.

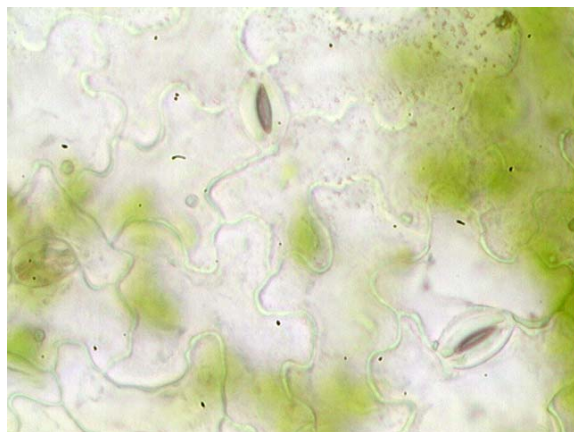
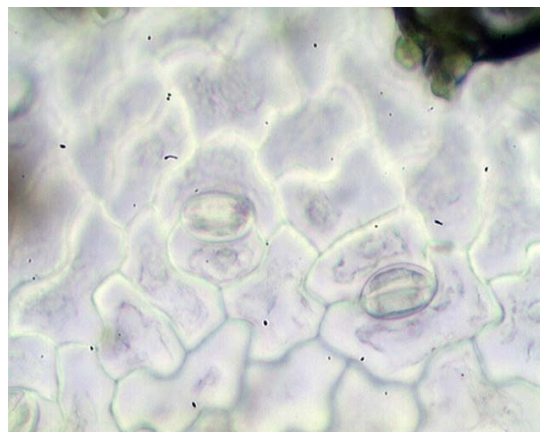
*а**б*

Рисунок 1 – Верхний эпидермис листа: *а* – К589109, *б* – Устя

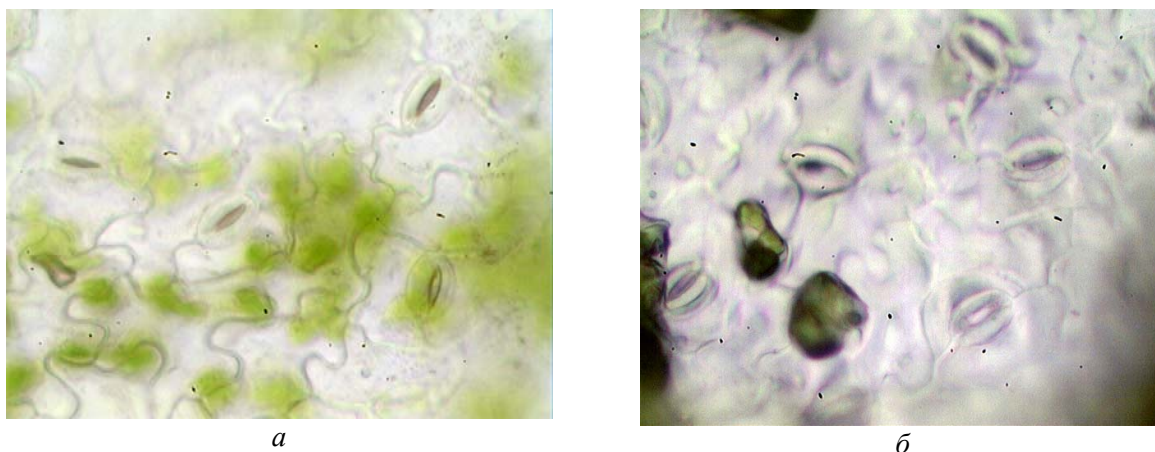


Рисунок 2 – Нижний эпидермис листа: а – К 589109, б – Устя

По характеру расположения околоустьичных (сопровождающих) клеток встречаются два типа устьичного аппарата на обеих поверхностях листа: диацитный (перекрестно-клеточный или кариофиллоидный) – с двумя побочными клетками, расположенными перпендикулярно к устьичной щели, при этом одна из околоустьичных клеток меньше другой (встречается как на верхнем, так и на нижнем эпидермисе листа).

Аномоцитный тип (беспорядочно-клеточный или ренункуллоидный) – устьица окружены тремя или четырьмя клетками, не отличающимися от других клеток эпидермиса (чаще встречается на верхнем эпидермисе листа).

Следует отметить, что преобладающим является диацитный тип как у растений первого, так и у растений второго сорта.

На эпидермисе листа и стебля были обнаружены простые и головчатые волоски. Простые волоски (рисунок 3), являясь выростами эпидермальных клеток, представляют собой одноклеточные образования, но при более детальном изучении отмечено, что у основания волоска находится еще одна маленькая клетка (рисунок 4), которая окружает основание простого волоска. Было отмечено, что волоски часто расположены на одноклеточных и многоклеточных выступах эпидермиса. Кроме того, на эпидермисе листа обнаружены многоклеточные головчатые волоски на двухклеточной ножке, расположена 3–6 клеточная головка с жидкостным содержимым (рисунок 5). Подобные эпидермальные структуры отмечены у представителей обоих сортов, но следует обратить внимание на то, что у сорта Устя в большинстве своем преобладают простые одноклеточные волоски, а у сорта К589109 встречаются как простые, так и головчатые волоски.



Рисунок 3 – Простые волоски на поверхности стебля

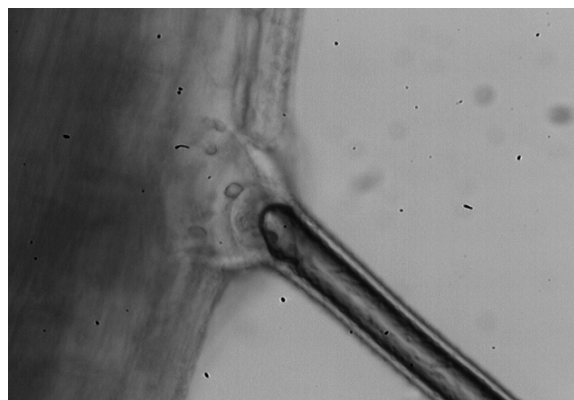


Рисунок 4 – Основание простого волоска на поверхности листа сои



Рисунок 5 – Головчатый волосок и простой волосок на поверхности листа

При изучении эпидермиса были сделаны фотоснимки, полученные после подсушивания препаратов. На рисунке 6, *а* показан одноклеточный простой волосок сои на верхнем эпидермисе листовой пластинки, а на рисунке 6, *б* – на нижнем эпидермисе листовой пластинки.

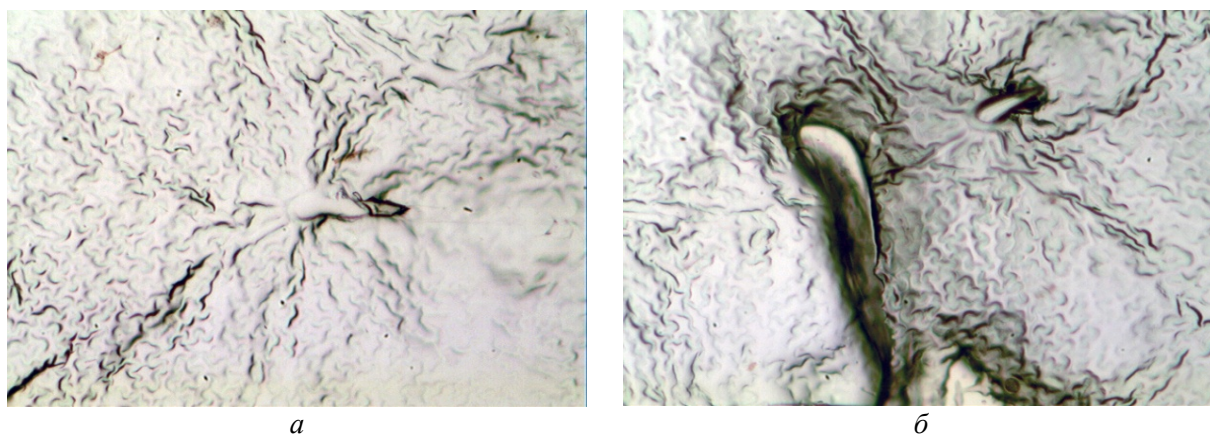


Рисунок 6 – Простой волосок сои: *а* – верхний эпидермис, *б* – нижний эпидермис

Прослеженные эпидермальные образования могут служить диагностическими признаками полезного растительного сырья.

На поперечном срезе стебля, вне зависимости от сортовой принадлежности, выявлено, что снаружи стебель покрыт однослойным эпидермисом. Наиболее плотный слой кутикулы отмечен у сорта Устя (рисунок 7). На эпидермисе стебля этого сорта имеются многочисленные простые волоски, как и на листе. Простые волоски одноклеточные, но могут иметь слегка изогнутые, расширенные или зауженные стенки (рисунки 11, 12). За эпидермой идут несколько рядов тонкостенных клеток хлорофиллоносной паренхимы. Она, в данном случае, служит ассимиляционным аппаратом. Причем следует отметить разницу в строении и расположении хлорофиллоносной паренхимы. У растений сорта К589109 эта ткань более упорядочена и занимает большую внутреннюю часть диаметра стебля, нежели у растений сорта Устя, у которого данная ткань представлена более сгруппированными клетками и расположена рыхло (клетки в ряде случаев «находят» друг на друга) (рисунок 7, *а*), что характеризует более выраженную ксероморфную структуру данного сорта. Первичная кора заканчивается однослойной эндодермой. Глубже находится прерывистый круг перидермических лубяных волокон, в значительной степени обеспечивающих прочность стебля. У растений сорта К589109 лубяные волокна развиты слабее (рисунок 7, *б*). Далее располагается кольцо сосудисто-волокнистых пучков, в которых резко преобладает ксилема над флоэмой. В ксилеме ясно видны сосуды, которые в дальнейшем формируют сердцевинные лучи. Между флоэмой и ксилемой ясно заметна прослойка камбия. Центральная часть стебля занята сердцевинной паренхимой, состоящей из крупных тонкостенных клеток. Клетки сердцевинны от ксилемы к центру становятся крупнее.

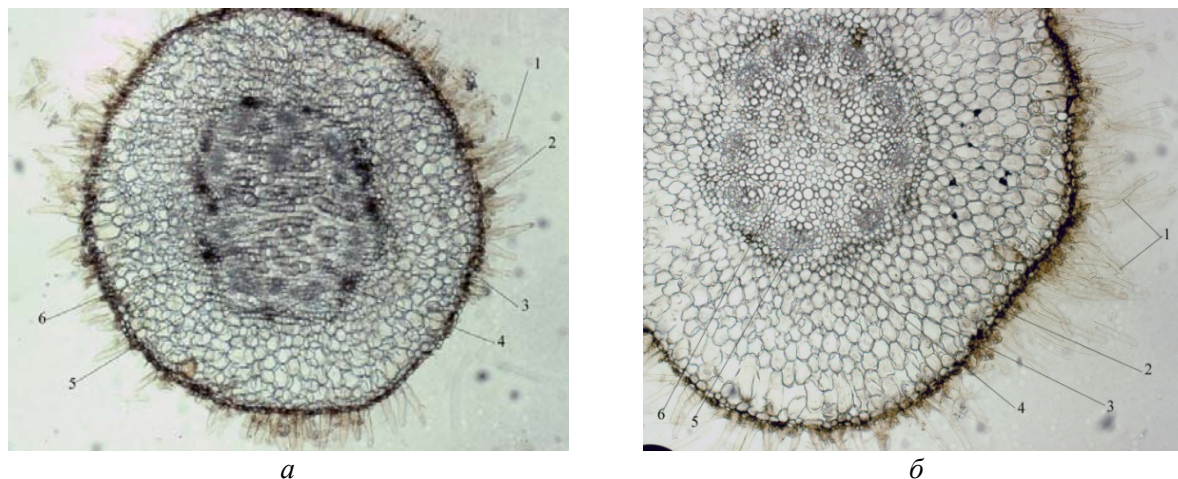


Рисунок 7 – Поперечный срез стебля: *a* – Устя, *б* – К 589109.
1 – простые волоски, 2 – эпидермис, 3 – первичная кора, 4 – эндодерма, 5 – флоэма, 6 – ксилема

На поперечном срезе корня видно, что снаружи корень покрыт двух-, трехслойной одревесневающей экзодермой у растений сорта К589109 (рисунок 8, *a*) и одно-, двухслойной экзодермой у растений сорта Устя (рисунок 8, *б*). Под экзодермой располагаются слои паренхимных клеток первичной коры. Самый внутренний слой клеток первичной коры представлен клетками эндодермы, которые плотно сплошным слоем окружают центральный цилиндр. Особенности сорта Устя явилось наличие среди паренхимных тонкостенных клеток ярко выраженных склеренхимных тяжей. У сорта К589109 они также присутствуют, но в меньшем количестве. Проводящая система представлена радиальным пучком, в котором группы элементов первичной флоэмы чередуются с тяжами первичной ксилемы. Флоэма отделена от лучей первичной ксилемы узким слоем живых тонкостенных клеток. Особенности в строении корня у растений сортообразца К589109 (рисунок 9, *a*) является рыхлая структура слоев паренхимных клеток первичной коры, тогда как у растений сорта Устя количество сосудов увеличено, однако в диаметре они меньше (рисунок 9, *б*).

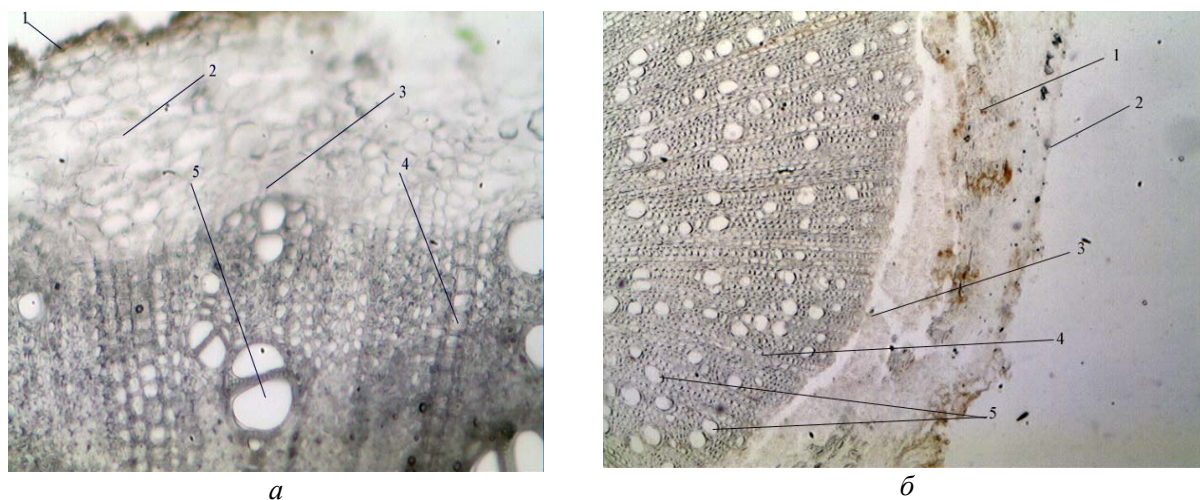


Рисунок 8 – Поперечный срез корня: *a* – К 589109, *б* – Устя.
1 – экзодерма, 2 – паренхимные клетки первичной коры, 3 – эндодерма, 4 – луч, 5 – сосуд

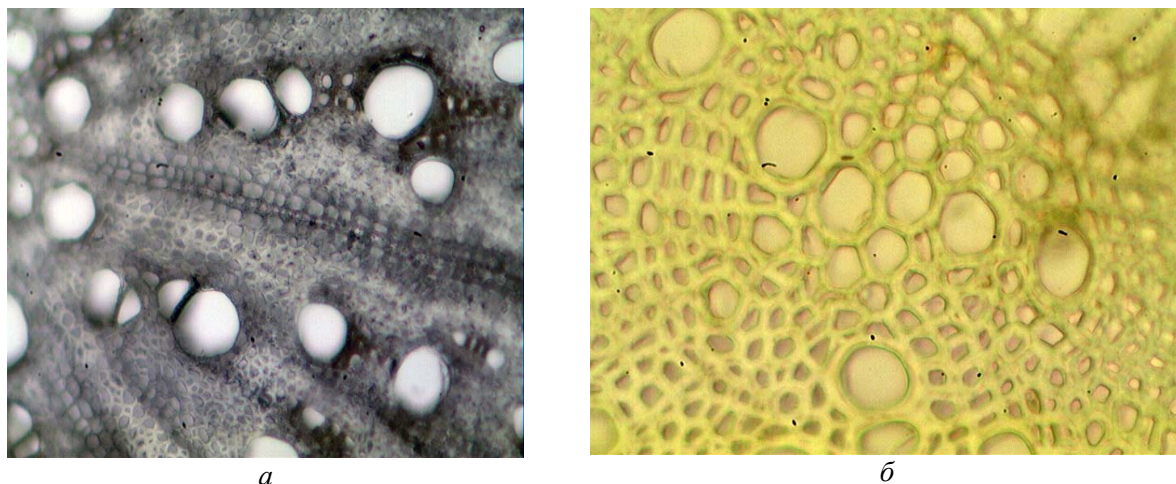


Рисунок 9 – Сосуды сердцевинки сорта: *а* – К 589109, *б* – Устя

Выводы.

По структуре тканей соя занимает промежуточное положение между ксероморфным и мезоморфным типом. Однако было отмечено, что у растений сорта Устя в большей степени преобладают черты ксероморфизма, тогда как сорт К589109 характеризуется мезоморфным типом строения.

В результате проведенного сравнительного анатомо-морфологического исследования сои возделываемой в условиях дефицита влаги было установлено сортовое сходство, которое выражается в следующем: по характеру мезофилла лист сои относится к дорзо-вентральному типу; как на листе, так и на стебле, были обнаружены простые и головчатые волоски; устьица имеются на верхнем и нижнем эпидермисе листа, по характеру расположения околоустьичных клеток преобладает диацитный тип.

Сортowymi отличительными признаками являются:

1) в отношении эпидермиса листа у сорта Устя есть отличительные признаки в покровной ткани листа, которые заключаются в более выраженном опушении листовой пластинки, что позволяет отметить ксероморфизм структуры. У данного сорта выражена вязкость протоплазмы. Превалируют простые одноклеточные волоски, а у сорта К589109 встречаются как простые, так и головчатые волоски;

2) в структуре стебля наиболее плотный слой кутикулы отмечен у сорта Устя. У растений сорта К589109 слой хлорофиллоносной паренхимы более упорядочен и занимает большую внутреннюю часть диаметра стебля, нежели у растений сорта Устя, у них же данная ткань представлена более сгруппированными клетками и расположена рыхло (клетки в ряде случаев «находят» друг на друга);

3) особенностями корня у сорта Устя явилось наличие среди паренхимных тонкостенных клеток ярко выраженных склеренхимных тяжей. У сорта К589109 они присутствуют, но в меньших количествах.

Таким образом, на основании полученных данных по изучению анатомо-морфологической структуры эпидермиса листовой пластинки, стебля и корня двух сортов сои, можно сделать заключение о том, что растения сорта К589109, отличаются более мезофитными (обладают в ограниченной степени способностью приспосабливаться к неблагоприятному влиянию засухи) признаками в строении вегетативных органов, нежели растения сорта Устя, у которого были отмечены более ксероморфные формы растений (в высокой мере способны приспосабливаться морфологически и анатомически к значительному дефициту влаги в воздухе и почве). Признаки ксерофитного типа можно использовать в процессе селекции засухоустойчивых сортов сои.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Кушниренко М.Д. Устойчивость сельскохозяйственных растений к засухе и экстремальным температурам. – Кишинев: Штиинца, 1986. – 109 с.
- 2 Seki M., Kamei A., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Molecular responses to drought, salinity and frost: Common and different paths for plant protection // *Curr Opin Biotech.* – 2003. – 14. – P. 194-199.
- 3 Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses // *Annu Rev Plant Biol.* – 2006. – 57. – P. 781-803.
- 4 Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance // *J. Exp Bot.* – 2007. – 58. – P. 221-227.
- 5 Пермяков А.И. Микротехника. – М.: Гостехиздат, 1988. – С. 11-18, 28-29.
- 6 Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. – М., 1960. – 260 с.
- 7 Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др. Справочник по ботанической микротехнике (Основы и методы). – М.: МГУ, 2004. – 312 с.

REFERENCES

- 1 Kushnirenko M.D. *Ustoichivost selskohozyastvennyh rasteniy k zasuhe i ykstremlnim temperaturam.* Kishinev: Shtiinca, 1986. 109 p. (in Russ.)
- 2 Seki M., Kamei A., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. *Molecular responses to drought, salinity and frost: Common and different paths for plant protection.* *Curr Opin Biotech.* 2003. 14. P. 194-199.
- 3 Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. *Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses.* *Annu Rev Plant Biol.* 2006. 57. P. 781-803.
- 4 Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. *Gene networks involved in drought stress response and tolerance.* *J. Exp Bot.* 2007. 58. P. 221-227.
- 5 Permyakov A.I. *Mikrotehnika,* M.: Gostehizdat. 1988. P. 11-18, 28-29. (in Russ.)
- 6 Prozina M.N. *Botanicheskaya mikrotehnika.* M., 1960. 260 p. (in Russ.)
- 7 Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G. i dr. *Spravochnik po botanicheskoy mikrotehnikе (Osnovy i metody).* M.: MGU, 2004. 312 p. (in Russ.)

Резюме

С. В. Дидоренко¹, Р.С. Масоничич-Шотунова¹, Т.Е. Лу², Н.В. Курбатова³

¹Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан,

²Қазақ биология және биотехнология ғылыми-зерттеу институты, Алмалыбақ, Қазақстан,

³әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан)

ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ТҰРАҚТЫЛЫҒЫ ӨРТҮРЛІ ҚЫТАЙБҰРШАҚТЫҢ ВЕГЕТАТИВТІ МҮШЕЛЕРІ
ҚҰРЫЛЫМЫНЫҢ АНАТОМИЯЛЫҚ-МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІН АЙҚЫНДАУ

Қытайбұршақ өндірісін ұлғайту – Қазақстан Республикасының солтүстік аймағындағы жемшөп және азық-түлік тапшылығы мәселелерін шешудің маңызды жолдарының бірі, бұл аймақтарда қытайбұршақ тиісті түрде таралмаған. Мұның басты себептерінің бірі, жоғары өнімді, ультратез пісетін, жергілікті жағдайларға бейімделген, вегетацияның бастапқы кезеңдерінде аязға және құрғақшылыққа төзімді сорттардың жоқтығы, өйткені қытайбұршақ бұл аймақта суарылмай өсіріледі.

Қытайбұршақ өсімдіктері морфологиялық, биохимиялық, физиологиялық және молекулалық бейімделулер көптілігіне ие, ол ылғал тапшылығынан болған күйзеліспен күресу үшін қажет, мұны қолда бар сорттарды жақсарту үшін пайдалануға болады.

Вегетативті мүшелердің құрылымына анатомиялық-морфологиялық зерттеу жүргізу үшін әлемдік коллекция қытайбұршағының сортүлгілері іріктелді, олар құрғақшылыққа жоғары тұрақтылығымен ерекшеленеді. Үлгілері өсімдіктердің генеративтік кезеңі жағдайларында алынды (бұршақтардың түзілу фазасы), осы кезеңде өсімдіктер ылғал тапшылығы жағдайларында өсірілді.

Жапырақтың жабын тканіндегі ерекшелік белгілері Устя (Украина) сортында анықталды, бұл жапырақ пластинкасының айқын төмен түсуімен байқалды, бұл құрылым ксероморфизмін белгілеуге мүмкіндік береді. Протоплазманың жабысқақтығы айқын көрінді. Сабағының құрылымында кутикуланың едәуір тығыз қабаты көрінді. Берілген сорт тамырының ерекшелігі – паренхимдік жұқа қабатты жасушаларының арасында айқын көрінген склеренхимдік тәждердің болуы. Бұл анатомиялық-морфологиялық ерекшеліктер Устя сортын құрғақшылыққа төзімді сорттарға жатқызады.

Тірек сөздер: қытайбұршақ, құрғақшылыққа төзімділік, анатомиялық-морфологиялық белгілер, ксероморфизм, мезофит.

Summary

S. V. Didorenko¹, R. S. Massonichich-Shotunova¹, T. E. Lee², N. V. Kurbatova³

¹Kazakh research institute of agriculture and crop growing, Almaty, Kazakhstan,

²Kazakh research institute of biology and biotechnology, Almaty, Kazakhstan,

³Kazakh national university al-Farabi, Almaty, Kazakhstan)

IDENTIFICATION OF ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF VEGETATIVE ORGANS' COMPOSITION WITH DIFFERENT DROUGHT RESISTANTS SOYBEAN VARIETIES

Increase in soybean production is one of the most important ways to address the shortage of feed and food protein in the Northern Region of the Republic of Kazakhstan, where soybean has not yet received proper distribution. One reason for this is the lack of high-ultra-early varieties adapted to local conditions, have frost in the early periods of the growing season and increased drought resistance, as grown in this region without irrigation.

Soybean plants have a great variety of morphological, biochemical, physiological and molecular adaptations and responses in order to better cope with the effects of water deficit stress, which can be used to improve existing varieties.

To carry out the anatomical and morphological studies of the structure of vegetative organs there was a selection of accessions of soybean world collection possessing signs of increased drought tolerance. Plant samples were taken at a time when the plants were in generative age state (phase formation of pods), the plants were grown under conditions of water deficit.

Features in the coating of leaf tissue were found in Ustyia variety (Ukraine), which are more pronounced in the pubescence of the leaf blade that allows to mark xeromorphic structure. Expressed the viscosity of protoplasm. In the structure of the stem the most dense layer of the cuticle is marked. Features at the root of the class were the presence of thin-walled parenchyma cells pronounced sclerenchyma strands. These anatomical and morphological features include the drought-resistant Ustyia to variety.

Keywords: soybean, drought, anatomical and morphological characteristics, xeromorphic, mesophyte.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 612.014.464–615.32

*Н. И. ЖАПАРКУЛОВА, З. Ж. СЕЙДАХМЕТОВА, У. Н. КОЖАНИЯЗОВА,
Н. Н. ЖУМАДИЛЛАЕВА, Ш. С. ШЫНЫБЕКОВА*

(Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Казахстан.
E-mail: JNI-78@mail.ru)

**АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДИДИСМУТАЗЫ
В ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ОРГАНАХ КРЫС
С ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИЕЙ**

Аннотация. Исследование активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы в жизненно важных органах крыс показало неоднозначное изменение при всех степенях гипоксии. Было отмечено незначительное понижение активности при первой степени тяжести гипоксии. При действии гипоксии второй степени преобладала тенденция увеличения активности фермента относительно контроля в микросомах всех органов. При третьей степени активность СОД снижалась как относительно средней степени экспериментальной гипоксии, так и данных контроля. Применение фитопрепарата в дозе 200 и 400 мг/кг массы животного при экспериментальной гипоксии оказало положительное действие на активность СОД во всех исследуемых органах.

Ключевые слова: гипоксия, супероксиддисмутазы, антиоксидант, фитопрепарат.

Трек содер: гипоксия, супероксиддисмутазы, антиоксидант, фитопрепарат.

Keywords: hypoxia, superoxiddismutase, antioxidant, phytopreparation.

Гипоксия – это один из факторов, включающих генерацию свободных радикалов в перинатальной период. Внутриутробная гипоксия плода в настоящее время занимает ведущее место в структуре причин перинатальной смертности (40–90%). Особенно неблагоприятными для плода, страдающего хронической внутриутробной гипоксией, являются осложнения родовой деятельности, которые приводят к срыву компенсаторных механизмов и тяжелым последствиям [1].

Антиоксидантная система (АОС) – система противоокислительной защиты, противостоящая повреждающему действию свободных радикалов и активных форм кислорода [2]. Они могут быть природного (биооксиданты) и синтетического происхождения [3]. Первую линию защиты от свободных радикалов составляют такие антиоксидантные ферменты, как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и пероксидаза [4, 5]. В условиях нормального обмена СОД поддерживает концентрацию супероксидных радикалов на определенном уровне, защищая тем самым клеточные структуры от их повреждающего действия. Однако в условиях неблагоприятного воздействия на организм, когда число свободных радикалов возрастает, наступает дисбаланс. Наиболее выраженное повышение супероксидных анионрадикалов характерно для клеток организма при гипоксии [6, 7]. Супероксиддисмутаза, тормозя процесс избыточной генерации супероксидного анион радикала, осуществляет защитное действие и выступает в качестве природного мембрано- и цитопротектора. Было отмечено, что хроническая внутриутробная гипоксия вызывает понижение активности СОД и повышение активности каталазы, а в период реоксигенации наблюдается угнетение активности обоих ферментов с тенденцией к постепенному увеличению [8, 9].

Целью работы явилось исследовать содержание активности супероксиддисмутазы в жизненно важных органах крыс при пренатальной гипоксии, а также изучить возможность коррекции фитопрепаратом в дозе 200 и 400 мг/кг.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проводились на лабораторных самках крыс массой 200–220 г с 21–22 дневным циклом гестации. Для проведения экспериментального исследования все животные были разделены на группы: контрольная группа животных; экспериментальная группа в условиях хронической гипоксии легкой, средней и тяжелой степени, группы с применением фитопрепарата на фоне хронической гипоксии. Забор органов (молочная железа, сердце, печень, почки, головной мозг) проводили на 21 день беременности, ткань гомогенизировали и выделяли микросомы.

Активность супероксиддисмутазы определяли иммуноферментным методом с использованием набора Sigma. Для выяснения роли фитопрепарата в защите мембран перорально вводили препарат предварительно и во время действия пренатальной гипоксии в дозе 200 и 400 мг/кг массы животных. Результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel с учетом критерия Фишера-Стьюдента, зарегистрированные изменения показателей считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

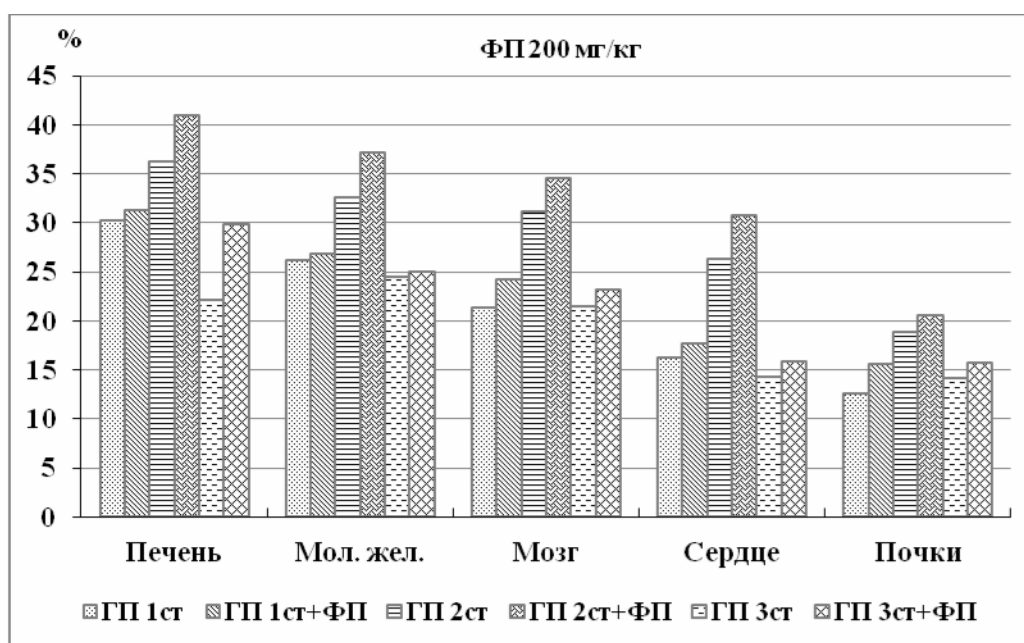
Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при исследовании активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы наблюдается незначительное понижение активности при первой степени тяжести гипоксии. Затем, при действии гипоксии второй степени преобладала тенденция увеличения активности фермента относительно контроля в микросомах всех органов (таблица). При третьей степени активность СОД снижалась как относительно показателей средней степени экспериментальной гипоксии, так и данных контроля. Такое неравномерное изменение антиоксидантной системы на фоне повышения перекисного окисления липидов говорит об интенсификации компенсаторных механизмов при экспериментальной гипоксии у животных. Уменьшение активности ферментов антиоксидантной защиты при тяжелой гипоксии указывает на фазу декомпенсации гипоксического процесса и изменениях окислительного метаболизма, $p \leq 0,05$.

Применение фитопрепарата в дозе 200 мг/кг массы животного оказало положительное действие на активность СОД во всех исследуемых органах. Наибольший эффект проявился при гипоксии второй степени. Так, при введении фитопрепарата в дозе 200 мг/кг массы активность СОД возросла

Содержание антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы в жизненно важных органах крыс, %

Наименование органов	Контроль	Гипоксия 1 степени	Гипоксия 2 степени	Гипоксия 3 степени
Мозг	28,19±0,3	21,32±0,4	31,21±0,6	21,48±0,6
Молочная железа	30,2±0,3	26,2±0,1	32,64±0,4	24,52±0,3
Сердце	20,11±0,4	16,2±0,4	26,25±0,4	14,32±0,6
Печень	32,11±0,5	30,2±0,3	36,21±0,3	22,18±0,4
Почки	16,24±0,4	12,6±0,5	18,84±0,1	14,12±0,5

в микросомах молочной железы на 4,6 %, в мембранах кардиомиоцитов на 13,8 %, в микросомах печени на 4,7 %, в микросомах мозга на 3,4 %. В мембранах клеток почек выявлен наименьший эффект – 1,76 % (рисунок 1).

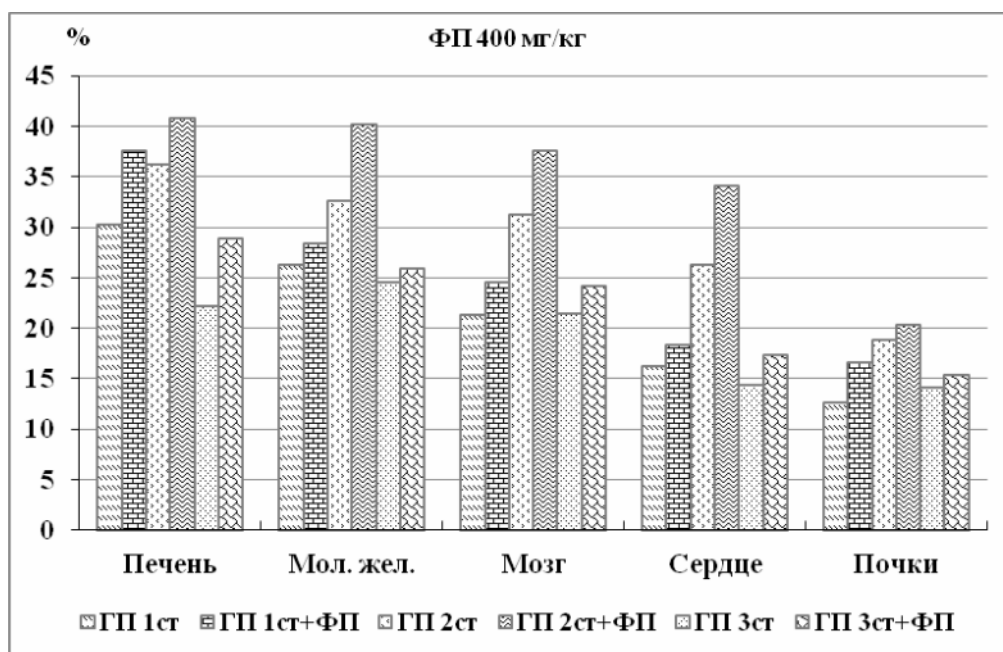


По оси абсцисс: наименование органов; по оси ординат: активность СОД, %.

Рисунок 1 – Влияние фитопрепарата в дозе 200 мг/кг массы на активность фермента супероксиддисмутазы у крыс с пренатальной гипоксией

Более эффективное действие оказала доза фитопрепарата 400 мг/кг массы животного. Тенденция повышения активности наблюдается во всех жизненно важных органах при экспериментальной гипоксии 1, 2, 3 степени тяжести (рисунок 2). Доза фитопрепарата 400 мг/кг массы оказывает повышение активности СОД в микросомах исследуемых органов, достигая пика значений при гипоксии второй степени, $P \leq 0,05$.

Активность фермента супероксиддисмутазы в жизненно важных органах крыс при введении фитопрепарата повышена при всех степенях воздействия пренатальной гипоксии. Очевидно, что организм мобилизует антиоксидантную систему, чтобы компенсировать нарушение функций органов и систем, вызванных гипоксическим воздействием. При всех степенях гипоксии наблюдается неравномерное изменение активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы. Применение фитопрепарата в дозе 200 и 400 мг/кг массы животного оказало положительное действие на активность СОД во всех исследуемых органах.



По оси абсцисс: наименование органов; по оси ординат: содержание СОД, %.

Рисунок 2 – Показатели активности фермента супероксиддисмутазы у крыс с гипоксией при действии фитопрепарата 400 мг/кг массы

В наших экспериментах по изучению антиоксидантного статуса организма беременных крыс, что пренатальная гипоксия вызывает неоднозначную реакцию со стороны антиоксидантной системы. При исследовании активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы наблюдается неравнозначное изменение активности при всех степенях гипоксии. Применение фитопрепарата в дозе 200 и 400 мг/кг массы животного оказало положительное действие на активность СОД во всех исследуемых органах.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Кореновский Ю.В., Горбенко Е.В., Ремнёва О.В., Фадеева Н.И., Ельчанинова С.А. Оксидативный стресс и антиоксидантная способность у недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией при рождении и на седьмые сутки жизни // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22, № 1. – С. 19-22.
- 2 Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю. и др. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. – Киев: Морин, 2004. – 160 с.
- 3 Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия: Учеб. для вузов. – М.: Дрофа, 2004. – 640 с.
- 4 Берберова Н.Т. Из жизни свободных радикалов // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – № 5. – С. 39-44.
- 5 Serdar Z., Aslan K., Dirican M., Sarandöl E., Yeşilbursa D., Serdar A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease // Clinical Biochemistry. – 2006. – Vol. 39, N 8. – P. 794-803.
- 6 Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы цитотоксического действия гипоксии. Патогенез гипоксического некробиоза // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 7. – С. 32-40.
- 7 Cotgreave I.A., Moldeus P., Orrenius S. Host biochemical defense mechanism against pro-oxidants // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1988. – N 28. – P. 189-212.
- 8 Меньшанов П.Н. Эффекты глюкокортикоидов на экспрессию генов апоптоза в неонатальном мозге крыс: дис. ... канд. биол. наук. – М., 2007. – 16 с.
- 9 Хайбуллина З.Р., Сидикова Н.Т. Активность ферментов антиоксидантной системы организма при хронической внутриутробной гипоксии и реоксигенации в эксперименте // Молодой ученый. Ежемесячный научный журнал. – 2010. – № 10(21). – С. 327-332.

REFERENCES

- 1Korenovsky Yu.V., Gorbeno E.V., Remneva O.V., Fadeyeva N.I., Elchaninova S.A. Oksidativny a stress and antioxidant ability at prematurely born newborns with a perinatal hypoxia at the birth and for the seventh days. The Siberian medical magazine. 2007. N 1. P. 19-22. (in Russ.).
- 2 Kazimirko V.K., Maltsev V.I., Butylin V.Yu. et al. Free radical oxidation and antioxidant therapy. Kiev: Morion, 2004. 160 p. (in Russ.).

- 3 Komov V.P., Shvedova V.N. Biochemistry: Studies. for Higher education institutions. M.: Bustard, 2004. 640 p. (in Russ.).
- 4 Berberova N.T. From life of free radicals. The Sorosovsky educational magazine. 2000. N. 5. P. 39-44. (in Russ.).
- 5 Serdar Z., Aslan K., Dirican M., Sarandöl E., Yeşilbursa D., Serdar A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. Clinical Biochemistry. 2006. Vol. 39, N 8. P. 794-803.
- 6 Chesnokova N.P., Ponukalin E.V., Bizenkova M.N. Molecular and cellular mechanisms of cytotoxic action of a hypoxia. Patogenez hypoxemic necrobios. Modern high technologies. 2006. N. 7. P. 32-40. (in Russ.).
- 7 Cotgreave I.A., Moldeus P., Orrenius S. Host biochemical defense mechanism against pro-oxidants. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1988. N 28. P. 189-212.
- 8 Menshanov P.N. Effects of glucocorticoids on an expression of genes apoptos in a neonatal brain of rats: yew cand. biol. sci. M., 2007. 16 p. (in Russ.).
- 9 Haybullina Z.R., Sidikova N.T. Aktivnost of enzymes of antioxidant system of an organism at a chronic pre-natal hypoxia and a reoxygenation in experiment. The Young scientist. Monthly scientific magazine. 2010. N 10(21). P. 327-332. (in Russ.).

Резюме

*Н. И. Жапарқұлова, З. Ж. Сейдахметова, У. Н. Қожаниязова, Г. К. Ташенова,
Н. Н. Жұмадиллаева, Ш. С. Шыныбекова*

(ҚР БҒМ ҒК Адам және жануарлар физиологиясы институты, Алматы, Қазақстан)

ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДЫҢ ПРЕНАТАЛЬДІ ГИПОКСИЯ КЕЗІНДЕГІ ӨМІРЛІК МАҢЫЗДЫ МҮШЕЛЕРІНДЕГІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА БЕЛСЕНДІЛІГІ

Пренатальді гипоксияның әртүрлі деңгейлерінде буаз егеуқұйрықтардың өмірлік маңызды мүшелеріндегі супероксиддисмутаза ферменті белсенділігінің көрсеткіштерінде айтарлықтай өзгерістер көрінді. Тәжірибелі гипоксия кезінде фитопрепаратты қолдану барлық зерттелген мүшелердің СОД белсенділігіне жағымды әсерін тигізді. Бірінші деңгейлі гипоксия кезінде айтарлықтай өзгерістер байқалмады. Екінші деңгейлі гипоксия кезінде ферменттің белсенділігі барлық мүшелердің микросомаларында бақылау деңгейіне қарағанда жоғарылауы көрінді. Үшінші деңгейлі тәжірибелі гипоксия кезінде СОД белсенділігі екінші деңгейдегі көрсеткіштермен сәйкес, яғни бақылау деңгейіне жақын. Тәжірибелік гипоксия кезінде 200 мг/кг және 400 мг/кг салмағына сәйкес фитопрепаратты қабылдаған жануарлардағы өмірлік маңызды мүшелерінде СОД белсенділігі оңтайлы әсерін тигізді.

Тірек сөздер: гипоксия, супероксиддисмутаза, антиоксидант, фитопрепарат.

Summary

*N. I. Zhaparkulova, Z. Zh. Seydakhmetova, U. N. Kozhaniyazova, G. K. Tashenova,
N. N. Zhumadillaeva, Sh. S. Shynybekova*

(Institute of Human and animal physiology of SC of MES RK, Almaty, Kazakhstan)

SUPEROXIDDISMUTAZA'S ACTIVITY IN BODIES OF RATS WITH PRENATAL HYPOXIA

Investigation of the activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase in the vital organs of rats showed an ambiguous change at all degrees of hypoxia. There was a slight decrease in activity in the first degree of severity of hypoxia. Under the action of hypoxia the second degree tended to increase enzyme activity relative to the control in microsomes of all organs prevails. In the third degree SOD activity decreased as a relatively moderate degree of hypoxia experimental and control data. Application of phytomedication at 200 and 400 mg/kg animal body weight in experimental hypoxia had a positive effect on the SOD activity in all examined organs.

Keywords: hypoxia, superoxiddismutase, antioxidant, phytopreparation.

Поступила 10.0.2014 г.

*Н. П. МАЛАХОВА, Б. К. ЖУМАГЕЛЬДИНОВ, ХАСЕЙН А,
Б. К. ТЕЗЕКБАЕВА, А. А. КАЛИЕВА, А. Б. АХМЕТЖАНОВА*

(РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан. E-mail: tasha_malakhova@mail.ru)

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Аннотация. В статье представлены результаты научных исследований по созданию новых линий картофеля с повышенной засухоустойчивостью для южных регионов Казахстана методами клеточной селекции и биотехнологии. Получены новые перспективные линии картофеля от сорта «Аксор» с повышенной устойчивостью к засухе и высоким температурам. Методом иммуно-ферментного анализа проведена оценка растений-регенерантов новых линий на вирусные заболевания. По результатам экологического тестирования новых линий на засухоустойчивость и урожайность в естественных условиях засухи выявлено 5 линий, превосходящие исходный сорт по этим параметрам.

Ключевые слова: картофель, культура клеток, клеточная селекция, засухоустойчивость, безвирусные растения.

Тірек сөздер: картоп, клетка культураны, клеткалық селекция, құрғақшылыққа төзімділік, вирусыз өсімдік.

Keywords: potato, cell culture, cell selection, drought resistance, virus-free plants.

Введение. Ежегодные значительные потери урожая картофеля в южных и юго-восточных областях Казахстана непосредственно связаны с особенностями возделывания этой культуры в условиях жаркого и засушливого климата. Используемые для культивирования в этих областях сорта картофеля должны быть хорошо адаптированы к высоким температурам, демонстрировать устойчивость к засухе и основным болезням и вредителям. Широкое применение перспективных сортов зарубежной селекции и отечественных сортов картофеля в этих районах ограничено их быстрой вырождаемостью, высоким инфекционным индексом поражения семенного материала и значительным снижением урожайности в течение 2–3 лет. Причинами такого явления считают снижение иммунного ответа растений в результате теплового шока из-за высоких температур, в результате чего относительно устойчивые сорта становятся восприимчивыми к болезням и вырождаются [1]. Одним из наиболее эффективных путей решения этой проблемы является применение новых, высокоурожайных, адаптированных к засухе устойчивых сортов и линий картофеля, полученных с помощью современных методов клеточной селекции и биотехнологии. Благодаря использованию этих методов стало возможным в сжатые сроки получить новые формы растений с признаками, значительно превосходящими исходные формы по ряду таких качеств, как устойчивость к высоким температурам, низкой влажности почвы и воздуха, засоленности почвы, действию фитопатогенов. На сегодняшний день с помощью методов клеточной селекции уже были получены новые сорта и линии сельскохозяйственно-ценных растений картофеля, томата, пшеницы, риса, ячменя, льна, огурца, табака, капусты, рапса, ряда кустарниковых и древесных культур, устойчивые к широкому спектру абиотического и биотического стресса [2–13]. Кроме того, применение современных биотехнологических подходов позволяет успешно решать вопросы оздоровления семенного материала картофеля что, несомненно, является актуальным в условиях повсеместного снижения качества посевного картофеля, используемого для картофелеводства в Казахстане [14]. Таким образом, сочетание методов современной клеточной биологии и биотехнологии является идеальным инструментом для решения проблемы улучшения уже существующих сортов отечественной селекции и оздоровления семенного материала картофеля.

Целью данного исследования являлось получение новых безвирусных линий перспективного сорта отечественной селекции «Аксор» с повышенной устойчивостью к почвенной засухе и высоким температурам с помощью методов клеточной селекции и биотехнологии.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследований использованы растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта «Аксор» из селекции «Казахского научно-исследовательского института картофелеводства и овощеводства». Сорт характеризуется хорошей жаростойкостью, средней урожайностью и относительной устойчивостью к вирусным заболеваниям [15].

Получение оздоровленных безвирусных растений картофеля. Безвирусные растения картофеля сорта «Аксор» получали из апикальной меристемы клубней, выдержанных при температуре 33–37°C в термостате в течение 3–4 недель. Из апикальной меристемы клубней картофеля на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением гормонов индолилуксусной кислоты (ИУК) 0,5 мл/л и акпинола 0,001 мг/л получали первичные безвирусные пробирочные растения [16, 17].

Микроклональное размножение растений картофеля в условиях *in vitro*. Размножение растений картофеля в условиях *in vitro* проводили путем микрочеренкования пробирочных растений, достигших высоты 10–12 см, с 6–8 междоузлиями в стерильных условиях. Культивирование растений проводили на МС среде при температуре воздуха 20–23°C, влажности воздуха 70–80%, при освещенности 3–4 тысячи люкс, с фотопериодом 16 часов [18]. Для оптимизации роста растений в питательную среду добавляли фитогормоны: ИУК в концентрации 1,0 мг/л и гибберелловую кислоту (ГК) – 2,0 мг/л в сочетании с кинетином – 0,5 мг.

Анализ растений-регенерантов картофеля на инфицированность вирусами. Пробирочные растения-регенеранты проверяли на инфицированность вирусами PVX, PVY, PVS, PVM, PVL на иммуноферментном анализаторе марки «Multiskan Ascent» фирмы Thermo. В работе использовали диагностические наборы для определения вирусов картофеля производства фирмы AGDIA – BIOFORDS, Франция. Оценку результатов ИФА осуществляли на фотометре при длине волны 405 нм.

Получение клеточных культур картофеля. Для получения каллусных культур картофеля использовали универсальную среду МС с добавлением сахарозы 20 г/л, агара 8 г/л и гормонов: ИУК 1 мл/л, 6-бензиламинопуридин (6-БАП) 2 мл/л. [19]. Каллусы получали из междоузлий и листовых пластинок растений-регенерантов картофеля. Каллусы высаживались в чашки Петри и культивировались в термостате при постоянной температуре 24°C и 70%-ной влажности воздуха, без освещения [17, 20].

Для получения суспензии 1–2 г морфогенной каллусной ткани культивировали в 30 мл жидкой аминокислотной питательной среды (АА). Состав среды АА (мг/л): КСl – 2,940 мг, CaCl₂·2H₂O – 440 мг, MgSO₄·7H₂O – 370 мг, KН₂PO₄ – 17,0 мг, микросоли – 1,0 мл, Fe-хелат – 5,0 мл, myo-Inositol – 100,0 мг, никотиновая кислота – 0,5 мг, пиридоксин – 0,1 мл, тиамин – 0,5 мл, Glycine – 75,0 мг, L-Glutamine – 877,0 мг, L-Aspartic acid – 266,0 мг, L-Arginine – 228,0 мг, с добавлением сахарозы – 30,0 г/л; 2,4-Д – 2,0 мг/л; кинетин – 0,2 мг/л и 0,1 мг/л ГК, рН 5.8 [21]. Суспензию культивировали на шейкере при режиме 120 об/мин. при 27°C на рассеянном свете. Субкультивирование проводили один раз в неделю. Через 4–6 недель получали активно растущую, мелко агрегированную, морфологически однородную суспензионную культуру.

Клеточная селекция. В основе клеточной селекции использовали принцип отбора генетически измененных клеток в присутствии селективного агента и последующей регенерации из них растений [22, 23]. Для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость в суспензионной культуре картофеля использовали подобранную ранее оптимальную концентрацию маннитола – 0,15М, который добавляли в жидкую аминокислотную среду АА. Клеточную селекцию в суспензионной культуре картофеля проводили по классической ступенчатой схеме: культивирование клеток в неселективных условиях (14 суток); культивирование клеток в селективных условиях (2 субкультивирования с периодом 7 суток); перенос клеток в неселективные условия (14 суток); перенос клеток в селективные условия (2 субкультивирования по 7 суток).

Результаты исследования и их обсуждение

Получение клеточных культур и клеточная селекция на засухоустойчивость. Для получения клеточных культур картофеля и проведения клеточной селекции на засухоустойчивость, нами был осуществлен предварительный этап подготовки и оздоровления исходного материала. Из

апикальной меристемы визуально здоровых клубней картофеля, были получены и размножены первичные безвирусные пробирочные растения. Из междоузлий пробирочных растений на агаризованной МС среде с добавлением гормонов ИУК и 6-БАП были получены морфогенные каллусы картофеля, послужившие исходным материалом для суспензионной клеточной культуры. Суспензионную культуру картофеля нарабатывали на жидкой питательной среде с высоким содержанием аминокислот (АА). Через 4–6 недель была получена активно растущая, мелко агрегированная, морфологически однородная суспензионная культура картофеля, которую использовали для проведения клеточной селекции.

Клеточную селекцию в суспензионной культуре картофеля проводили на среде АА с использованием селективного агента маннитола (0,15 М). В качестве контроля использовали суспензионные культуры картофеля сорта Аксор, культивируемые без добавления маннитола. После культивирования суспензионных клеток картофеля на селективной среде был произведен отбор жизнеспособных устойчивых к осмотическому стрессу клеток, из которых на агаризованной МС среде были наработаны морфогенные каллусы.

Получение и размножение растений-регенерантов картофеля. Получение растений-регенерантов картофеля из каллусных культур проводили на ранее оптимизированной нами среде для регенерации МС с добавлением ИУК (1 мг/л) и БАП (1 мг/л). Всего было получено 8 новых линий растений-регенерантов картофеля сорта Аксор с различным спектром засухоустойчивости. ИФА анализ пробирочных растений-регенерантов всех новых линий картофеля на инфицированность вирусами PVX, PVY, PVS, PVM, PVL показал отсутствие вирусной инфекции во всех растениях-регенерантах селективных линий картофеля. Далее, безвирусные растения-регенеранты всех линий были размножены методом микрочеренкования. Микроклональное размножение растений проводили в культуре *in vitro* на МС среде с фитогормонами ИУК (1,0 мг/л) и акпинолом (0,001 мг/л) [23]. В результате были получены тиражированные в необходимом объеме безвирусные пробирочные растения восьми новых засухоустойчивых линий картофеля сорта «Аксор» R37/A-3, R37/A-4, R37/A-9, R37/A-11, R37/A-12, R37/A-15, R37/A-17, R37/A-22.

Оценка новых линий на засухоустойчивость. Для проведения оценки засухоустойчивости новых линий картофеля, растения-регенеранты сначала адаптировали к условиям *ex vitro*, после чего переводили в пленочный парник, в условия, максимально приближенные к естественным. Принимая во внимание тот факт, что перевод пробирочных растений в условия *in vivo* и их дальнейшая адаптация к температурному, световому и водному режимам является серьезным стрессовым фактором, адаптацию растений-регенерантов новых линий проводили в два этапа. На первом этапе пробирочные растения были пересажены в индивидуальные пластиковые стаканчики с автоклавированной почвенной смесью (торф – земля – песок в соотношении 1:1:1), обработаны МС средой и помещены в светокультуральную климатическую камеру с 18-ти часовым световым днем, влажностью 70%, освещением 3000–5000 люкс и температурой: днев. + 25°C / ночн. + 22°C, для их укоренения и адаптации к естественному световому и температурному режиму. На данном этапе общая приживаемость пересаженных в почвенную смесь растений-регенерантов картофеля селективных форм составила около 87% от общего числа проростков. Процент приживаемости контрольных, не селектированных растений-регенерантов, оказался незначительно выше и составил 90%.

Второй адаптационный этап культивирования проводили через 2 недели после высадки растений-регенерантов в грунт. Дневную температуру культивирования повышали до + 35°C в световой период в течение 5 дней. Влажность уменьшали до 30%. На данном этапе результаты исследований выявили разную адаптационную способность растений-регенерантов для всех 8 селективных линий. Наиболее высокую адаптивную способность показали линии R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15, R37/A-17 и R37/A-22. Процент выживших растений этих линий после селективного этапа составил в среднем – 87 (± 2)%. Растения линий: R37/A-9, R37/A-11 R37/A-12 показали более низкий уровень адаптивной способности к высоким температурным условиям и низкой влажности. Всего общий процент выживших растений для всех трех линий после второго этапа адаптации составил 74(±3)% растений. Процент выживаемости контрольных растений-регенерантов на данном этапе составил 75%.

Все растения-регенеранты, прошедшие адаптацию к высоким температурам в условиях климатической камеры, были высажены в конце мая в закрытый грунт (парник) на территории экспериментального участка «КазНИИКО» для проведения селекции новых линий на засухоустойчивость в естественных условиях (рисунок 1).



1



2

Рисунок 1 – Рост растений-регенерантов селективных линий сорта «Аксор» в пленочной теплице:
1 – вид растений через 15 дней после высадки; 2 – вид растений через 1 месяц

После высадки растений в закрытый грунт в условиях пленочной теплицы (парник) были проведены фенологические наблюдения за ростом и развитием растений.

Среднестатистические температурные условия культивирования в парнике соответствовали естественным природным параметрам и составляли: в июне $+27 + 29^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью, в июле $+32 + 34^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью, в августе $+29 + 32^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью. Таким образом, селекция на засухоустойчивость растений-регенерантов новых линий картофеля сорта «Аксор» проводилась в естественных климатических условиях засухи.

Было отмечено, что в первые 15 дней после высадки потери высаженных растений составили около 11% от общего числа. При этом наибольшее число погибших растений принадлежало линиям R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-12, процент выпадения которых составил около 60% от общего числа потерь. Выпадение контрольных растений на данном этапе составило 23%.

Сбор морфологических данных, характеризующих рост и развитие растений-регенерантов селективных линий картофеля сорта «Аксор», проводился через 30, 60 и 90 дней после высадки растений в пленочную теплицу. Результаты морфологического анализа растений, полученные к концу первого месяца культивирования в условиях пленочной теплицы, показали, что все растения-регенеранты исследуемых линий развивались с разной интенсивностью, однако, в соответствии с определенными фазами онтогенеза своевременно формировали все надземные и подземные органы. Было установлено, что из восьми селективных линий картофеля сорта «Аксор», растения линий: R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15, R37/A-17 и R37/A-22 показали наибольшую интенсивность роста стебля и количества листьев за этот период развития. Наименьший рост растений был отмечен в растениях линий R37/A-9 (10,45 см) и R37/A-12 (13,65 см). При этом выявлено, что растения линии R37/A-9, показавшие наименьшую высоту стебля и количество листьев отличаются большей площадью листа (5,3 см) среди всех линий.

В процессе вегетации через 60 дней после высадки растений в парник по изменению морфологических параметров было установлено, что наиболее активным ростом и развитием отличаются растения линий R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15 и R37/A-17. При этом для растений двух линий R37/A-4 и R37/A-15 определены самые высокие показатели по высоте растений и числу междоузлий, по сравнению со всеми остальными. Наименьший результат по таким же параметрам был отмечен для растений линий R37/A-9 и R37/A-22.

Анализ морфологических данных за весь период вегетации (90 дней) показал, что растения-регенеранты селективных линий картофеля R37/A-4 и R37/A-15, значительно превосходят по всем показателям растения-регенеранты других селективных линий, как на начальном этапе культивирования в закрытом грунте, так и на более поздних этапах (таблица 1).

Таблица 1 – Морфологические параметры устойчивых к засухе растений-регенерантов картофеля сорта «Аксор», через 90 дней после высадки в условия *in vivo*

Сорт	Высота стебля, см	Длина корней, см	Кол-во междоузлий, шт.	Кол-во листьев, шт.	Кол-во придаточных корней, шт.	Площадь листьев, см ³
R37/A-3	59,03	20,1	11,1	55,6	20,2	27,2
R37/A-4	65,45	20,1	12,4	56,0	23,0	25,2
R37/A-9	46,7	18,5	9,9	42,3	18,1	26,7
R37/A-11	44,12	19,1	10,4	40,1	17,9	26,2
R37/A-12	43,2	18,02	9,1	39,1	17,2	29,3
R37/A-15	67,2	22,1	12,3	52,2	25,1	24,5
R37/A-17	64,07	20,0	10,4	53,4	21,2	25,7
R37/A-22	56,1	18,4	9,3	46,3	18,3	25,3
Контроль	23,0	19,0	10,7	47,0	18,2	25,7

Исключением из этой закономерности являлись данные, полученные при измерении площади листьев. Средняя площадь листьев растений-регенерантов линий R37/A-4 (25,2 см³) и R37/A-15 (24,5 см³) незначительно меньше, чем средняя площадь листьев растений-регенерантов всех остальных селективных линий (25,3–29,3 см³).

При этом все остальные показатели роста и развития растений-регенерантов этих двух линий несколько превышают средние данные, определенные для других селективных линий картофеля, участвующих в эксперименте (таблица 1). Очевидно, что редукция площади листьев у растений линий R37/A-4 и R37/A-15 может соответствовать физиологическим потребностям растений в уменьшении площади испарения с поверхности листьев во время засухи и является одним из признаков повышенной устойчивости растений к высокой температуре и низкому уровню влажности.

По окончании срока культивирования – через 90 дней после высадки в грунт был собран урожай мини клубней картофеля (рисунок 2) и проведен подсчет урожайности новых линий (таблица 2).



Рисунок 2 – Получение мини клубней засухоустойчивых селективных линий картофеля сорта «Аксор»

Оценку урожайности растений-регенерантов картофеля селективных линий проводили по следующим параметрам: количество выживших растений, среднее количество клубней на растение, средний вес клубней на растение.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, продуктивность селективных растений-регенерантов картофеля всех линий за период вегетации в закрытом грунте оказалась различной. Наименьшие показатели по среднему количеству и среднему весу мини клубней с куста были отмечены для растений-регенерантов селективных линий R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-22. Количество клубней с одного растения для этих линий составило в среднем 4 мини клубня, средний вес полученных мини клубней на одно растение так же оказался самым минимальным из всех 8 линий: R37/A-9 – 28,0 г, R37/A-11 – 28,8 г, R37/A-22 – 28,7 г, что практически незначительно превышает данные, полученные в контрольных растениях.

Таблица 2 – Показатели урожайности устойчивых к засухе селективных линий картофеля, выращиваемых в условиях *in vivo*

Линия / сорт	Количество растений, шт.	Среднее количество клубней/растение, шт.	Средний вес клубней/растение, г
R37/A-3	169	5	35,5
R37/A-4	171	6	48,6
R37/A-9	146	4	28,0
R37/A-11	150	4	28,8
R37/A-12	154	5	36,0
R37/A-15	177	7	50,6
R37/A-17	167	5	36,5
R37/A-22	144	4	28,7
Контроль	141	4	28,0

Наибольшую урожайность среди растений всех 8 селективных линий показали растения линий R37/A-15 и R37/A-4. Урожайность растений этих линий в среднем составила 7 и 6 миниклубней на одно растение, соответственно, что значительно превосходит показатели контрольных растений (4 миниклубня). Средний вес миниклубней линии R37/A-15 составил 50,6 г в пересчете на одно растение, для линии R37/A-4 – 48,6 г на одно растение. Для всех остальных, исследуемых на засухоустойчивость линий: R37/A-3, R37/A-12, R37/A-17, показатели урожайности в среднем значительно не отличались и варьировали в диапазоне от 35,5 г/растение (линия R37/A-13) до 36,5 г/растение (линия R37/A-17).

Исходя из данных, полученных в ходе анализа морфо-физиологических параметров роста и развития растений-регенерантов новых селективных линий картофеля в условиях близких к натуральным, можно заключить, что селективные линии R37/A-15 и R37/A-4 в испытаниях, проводимых в естественных условиях показали самые высокие значения, по сравнению со всеми остальными исследуемыми засухоустойчивыми линиями сорта «Аксор», полученными методом клеточной селекции. Основные показатели морфо-физиологических параметров по всем фазам онтогенеза и урожайности этих двух линий превышают таковые для других 6 испытываемых линий и контрольных растений, что является свидетельством того, что эти растения имеют более высокие адаптивные свойства к условиям засухи и являются перспективными для дальнейшего культивирования. Линии R37/A-3, R37/A-12 и R37/A-17 показали среднюю степень устойчивости к условиям засухи, что определялось по числу растений, успешно прошедших адаптацию к естественным условиям, морфо-физиологическими параметрами и количественными показателями их урожайности, превышающими таковые у растений исходного сорта (контроль). Эти линии так же могут быть использованы в дальнейшем для получения миниклубней и оздоровленного семенного материала для передачи в семеноводческие хозяйства. Растения линий R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-22 в исследованиях показавшие минимальные значения параметров, определяющих их рост и развитие в естественных условиях, а также минимальные количественные данные по урожайности в условиях засухи по сравнению с исходным сортом, не могут быть использованы в дальнейшем в качестве новых перспективных линий с улучшенной устойчивостью к засухе.

Таким образом, в результате клеточной селекции с использованием биотехнологических методов были получены 2 новые перспективные линии картофеля отечественного сорта Аксор, значительно превосходящего исходный сорт по устойчивости к засухе и урожайности.

ЛИТЕРАТУРА

1 Асауов С.Т. Структура урожая семенного картофеля в условиях Южного Казахстана // «Состояние и перспективы научных исследований по картофелеводству, овощеводству и бахчеводству». Мат-лы междунар. науч-практич. конф. КазНИИКО. – Алматы: Кайнар, 2011. – С. 123-124.

2 Bayoumi T., Eid M., Metwali E. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes // Afr. J. Biotechnology. – 2008. – Vol. 7(14). – P. 2341-2352.

3 Бавол А.В., Дубровная О.В., Лялько И.И. Использование методов клеточной селекции для повышения устойчивости пшеницы к офиоболезной корневой гнили // «Биотехнология клеток растений in vitro и биотехнология» тез. докл. междунар. научн. конф. – Звенигород, 2008. – С. 26.

4 Пролетова Н.В., Поляков А.В., Лошакова Н.И., Каранова С.Л. Использование методов культуры пыльников и клеточной селекции для получения форм льна, устойчивых к фузариозному увяданию // «Генетика в XXI веке: состояние и перспективы развития» тез. докл. междунар. конф. – М., 2004. – Т. 1. – С. 256.

5 Vabova L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens // J. Phytopathology. – 2005. – Vol. 153. – P. 52-64.

6 Hollmann P.J., Lohbruner G.K., Shamoun S.F., Lee S.P. Establishment and characterization of Rubus tissue culture system for in vitro bioassays against phytotoxins from Rubus fungal pathogens // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 2002. – Vol. 68. – P. 43-48.

7 Jayasankar S., Li Z., Gray D.J. In-vitro selection of Vitis vinifera 'Chardonnay' with Elsinoe ampelina culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase // Planta. – 2000. – Vol. 211(2). – P. 200-208.

8 Kasem Z. Ahmed, Mesterhazy Z., Bartok T., Szegi F. In vitro techniques for selecting wheat (Triticum aestivum L.) for Fusarium-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of Fusarium-resistance in the somaclones // Euphytica. – 1996. – Vol. 91(3). – P. 341-349.

9 Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection for fusaric acid resistant barley plants // Plant Breed. – 1987. – Vol. 99. – P. 159-163.

10 Vidal K., Guermache F., Timothy L. Widmer. In vitro culturing of yellow starthistle (Centaurea solstitialis) for screening biological control agents // Biological Control. – 2004. – Vol. 30. – P. 330-335.

11 Pontaroli A.C., Camadro E.L., Babinec F.J., Ridao A. Responses of Asparagus officinalis pollen to the culture filtrate of Fusarium oxysporum f.sp. asparagi // Scientia Horticulturae. – 2000. – Vol. 84. – P. 349-356.

12 Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням: Дис. ... докт. биол. наук. – М., 2003. – 282 с.

13 Мезенцева О.Ю. Использование тканевых и клеточных культур в селекции на устойчивость к фитопатогенам // Селекция и семеноводство. – 1990. – № 4. – С. 59-62.

14 Ахметова Ф.Ф. Производство оригинальных семян картофеля на безвирусной основе // «Современное состояние картофелеводства и овощеводства и их научное обеспечение» матер. междунар. науч.-практич. конф. НИИКОХ. – С. Кайнар, 2006. – С. 435-438.

15 Айтбаев Т.Е., Амиров Б.М. Сорты и гибриды картофеля и овощебахчевых культур селекции Казахского научно-исследовательского института картофелеводства и овощеводства // Каталог КазНИИКО. – С. Кайнар, 2011. – С. 11.

16 Фачиоли Г. Контроль вирусов картофеля с использованием культуры меристем и стеблевых черенков, термотерапии и хемотерапии // Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля / Под ред. Г. Лебенштейна, Ф. Х. Бергера, А. А. Бранта, Р. Х. Лоусона. – СПб., 2005. – С. 210-228.

17 Генетические основы селекции растений. – Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия // Науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск: Беларус. навука, 2012. – С. 252-253.

18 Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. – Т. 2. – М.: Воскресенье, 2001. – 468 с.

19 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.

20 Gamburg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – Vol. 46. – P. 417-421.

21 Калашникова Е.А., Нгуен Т.Х., Пронина Н.Б. Получение in vitro клеточных и тканевых культур подсолнечника, устойчивых к Sclerotinia sclerotiorum // «Биотехнология клеток растений in vitro и биотехнология» тез. докл. междунар. научн. конф. – Звенигород, 2008. – С. 158.

22 Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням: Дис. ... докт. биол. наук. – М., 2003. – С. 282.

23 Ватад А.А., Слуис К., Начмиас А. Ускоренное размножение испытанного на вирусы картофеля // Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля / Под ред. Г. Лебенштейна. – СПб., 2005. – С. 229-239.

REFERENCES

1 Asauov S.T. Structure of crop seed in the conditions of Southern Kazakhstan. *Mat-ly mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii KazNIKO "Sostojanie i perspektivy nauchnyh issledovanij po kartofelevodstvu, ovoshhevodstvu i bahchevodstvu"*. [Proc. Intern. scientific-practical. conf. KazNIKO "Status and prospects of research on potato, vegetables and melons farming"]. Almaty: v. Kajnar, 2011. P. 123-124. (In Russian).

2 Bayoumi T., Eid M., Metwali E. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *Afr. J. Biotechnology*. 2008. Vol. 7(14). P. 2341-2352.

3 Baval A.V., Dubrovnaia O.V., Ljal'ko I.I. Using the methods of cell selection to improve wheat resistance to root ofioboleznoy. *Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii "Biotehnologija kletok rastenij in vitro i biotehnologija"* [Proc. of reports. Intern. scientific conf. "Biotechnology of plant cells in vitro and biotechnology"]. Zvenigorod, 2008. P. 26. (In Russian).

4 Proletova N.V., Poljakov A.V., Loshakova N.I., Karanova S.L. Using the methods of anther culture and cell selection for flax forms resistant to Fusarium wilt. *Tezisy dokladov mezhdunarodnoy konferencii "Genetika v 21 veke: sostojanie i perspektivy razvitiija."* [Proc. of reports. Intern. scientific conf.]. M., 2004. Vol. 1. P. 256. (In Russian).

5 Vabova L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. *J. Phytopathology*. 2005. Vol. 153. P. 52-64.

- 6 Hollmann P.J., Lohbruner G.K., Shamoun S.F., Lee S.P. Establishment and characterization of Rubus tissue culture system for *in vitro* bioassays against phytotoxins from Rubus fungal pathogens. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2002. Vol. 68. P. 43-48.
- 7 Jayasankar S., Li Z., Gray D.J. *In-vitro* selection of *Vitis vinifera* 'Chardonnay' with *Elsinoe ampelina* culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase. *Planta.* 2000. Vol. 211(2). P. 200-208.
- 8 Kasem Z. Ahmed, Mesterhazy Z., Bartok T., Szigyi F. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for Fusarium-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of Fusarium-resistance in the somaclones. *Euphytica.* 1996. Vol. 91(3). P. 341-349.
- 9 Chawla H.S., Wenzel G. *In vitro* selection for fusaric acid resistant barley plants, *Plant Breed.* 1987. Vol. 99. P. 159-163.
- 10 Vidal K., Guermache F., Timothy L. Widmer. *In vitro* culturing of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) for screening biological control agents. *Biological Control.* 2004. Vol. 30. P. 330-335.
- 11 Pontaroli A.C., Camadro E.L., Babinec F.J., Ridao A. Responses of *Asparagus officinalis* pollen to the culture filtrate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi*. *Scientia Horticulturae.* 2000. Vol. 84. P. 349-356.
- 12 Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases: *Dis. ... dokt. biol. nauk.* Dissertation of the doctor of biological sciences. M., 2003. P. 282. (In Russian).
- 13 Mezenceva O.Ju. Using tissue and cell cultures in the selection for resistance to phytopathogens. *Selekcija i semenovodstvo.* J.Breeding and Seed Production. 1990. N 4. P. 59-62. (In Russian).
- 14 Ahmetova F.F. Production of original seed potatoes on the virus free base *Mater. mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii KazNIIKO "Sovremennoe sostojanie kartofelevodstva i ovoshhevodstva i ih nauchnoe obespechenie"* [Proc. Intern. scientific-practical. conf. KazNIIKO "Modern state of potato and vegetable farming and their scientific support"] v. Kajnar, 2006. P. 435-438. (In Russian).
- 15 Ajtbaev T.E., Amirov B.M. Varieties and hybrids of potatoes, vegetables and melons selection Kazakh Research Institute of Potato and Vegetable Crops. *Katalog KazNIIKO - Catalog KazNIIKO.* V. Kajnar, 2011. P. 11. (In Russian).
- 16 Fachiolli G. Control of potato viruses by using meristem culture and stem cuttings, thermotherapy and chemotherapy. *Virusnye i virusopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelja* [Virus and virus-like diseases and seed potatoes] By edit. G. Lebenshtejn, F. H. Berger, A. A. Brant, R. H. Louson. St. Peterburg, 2005. P. 210-228. (In Russian).
- 17 Biotechnology in plant breeding. Cellular Engineering. *Geneticheskie osnovy selekcii rastenij T. 3* [Genetic basis of plant breeding V.3]. Edit. A. V. Kil'chevskij, L. V. Hotyleva. Minsk: Belarus. navuka, 2012. P. 252 -253. (In Russian).
- 18 Sheveluha V.S. *Sel'skohozjajstvennaja biotehnologija* [Agricultural biotechnology]. M., 2001. Vol. 2. P. 468. (In Russian).
- 19 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473-497.
- 20 Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46. P. 417-421.
- 21 Kalashnikova E.A., Nguen T.H., Pronina N.B. Preparation of *in vitro* cell and tissue culture of sunflower resistant to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii "Biotehnologija kletok rastenij in vitro i biotehnologija"* [Proc. of reports. Intern. scientific conf. "Biotechnology of plant cells *in vitro* and biotechnology"] Zvenigorod, 2008. P. 158. (In Russian).
- 22 Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases *Diss.dokt. biol. nauk:* Dis. ... doctor of biological sciences. M., 2003. P. 282. (In Russian).
- 23 Vataad A.A., Sluis K., A.Nachmias Accelerated breeding tested for viruses potato *Virusnye i virusopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelja.* Viral and virus diseases and seed potatoes. By Edit. Lebenshtejn G. St. Peterburg, 2005. P. 229-239. (In Russian).

Резюме

Н. П. Малахова, Б. Қ. Жұмагелдинов, А. Хасейн,
Б. К. Тезекбаева, А. А. Қалиева, А. Б. Ахметжанова

(ҚР ҒҒМ ҒК М. Ә. Айтқожин атындағы «Молекулалық биология және биохимия институты» РМҚ,
Алматы, Қазақстан)

КЛЕТКАЛЫҚ ТЕХНОЛОГИЯ НЕГІЗІНДЕ КАРТОПТЫҢ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ЖОҒАРЫ ТӨЗІМДІ, ЖАҢА ПЕРСПЕКТИВТІ ТҮРЛЕРІН АЛУ

Мақалада ғылыми зерттеу жұмыс барысында Қазақстанның оңтүстік аудандарында клеткалық селекция және биотехнология әдістерінің көмегімен картоптың Ақсор сортынан ыстыққа және шөлге төзімді жаңа түрлерінің алынғандығы көрсетілген. Картоптың жаңадан бөлініп алынған түрлеріне иммуно-ферменттік талдау арқылы вирустық ауруларға төзімділігі және қарсы тұра алатындығы тексерілді. Экологиялық сұрыптау арқылы бөлініп алынған картоп түрлері ішінен ерекше төзімділікпен өнімділігін көрсеткен 5 түрі бөлініп алынды.

Тірек сөздер: картоп, клетка культурасы, клеткалық селекция, құрғақшылыққа төзімділік, вирусыз өсімдік.

Summary

*N. P. Malakhova, B. K. Zhumageldinov, A. Khassein,
B. K. Tezekbayeva, A. A. Kalieva, A. B. Akhmetzhanova*

(M. A. Aitkhozhin institute of molecular biology and chemistry, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

NEW PERSPECTIVE LINES OF POTATO WITH INCREASED DROUGHT RESISTANCE OBTAINED THROUGH CELL TECHNOLOGY

The article presents the results of scientific research dedicated to creation of new potato lines with increased drought resistance for Southern regions of Kazakhstan; using methods of cell selection and biotechnology. New perspective potato lines of Aksor variety with increased resistance to drought and high temperatures were obtained. Regenerant plants of the new lines were evaluated for virus diseases using enzyme immunoassay. According to the results of ecological testing of the new lines for drought resistance and yield in natural drought conditions 5 lines were identified which showed better characteristics of corresponding traits as compared to the original variety.

Keywords: potato, cell culture, cell selection, drought resistance, virus-free plants.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 547.9:581.19

Н. С. МАМЫТОВА¹, К. К. БОГУСПАЕВ², О. В. ФУРСОВ¹

¹РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина», Алматы, Казахстан,
e-mail: n_mamytova@mail.ru,

²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан)

ОСОБЕННОСТИ СЕКРЕЦИИ α -АМИЛАЗЫ АЛЕЙРОНОВОГО СЛОЯ ПШЕНИЦЫ

Аннотация. Исследована активность и электрофоретический спектр внутриклеточной (синтезированной) и внеклеточной (секретируемой) α -амилазы пшеничного алейронового слоя с помощью двух типов субстрата – растворимого крахмала и β -лимит декстрина. Установлены существенные различия в термостабильности изоформ фермента, продуцируемого изолированным и интактным алейроном. На основе экспериментальных данных с применением ингибиторов гликозилирования моненсина и туникамицина делается заключение о важности этапа постсинтетической модификации изоферментов пшеничной α -амилазы в придании термостабильности зрелым формам фермента.

Ключевые слова: алейрон, α -амилаза, изоферменты, секреция, синтез.

Тірек сөздер: алейрон, α -амилаза, изоферменттер, секреция, синтез.

Keywords: aleurone, α -amylase isozymes, secretion, synthesis.

Изучение растительной секреции это новая область протеомного исследования, посвященная глобальному исследованию реализации функций синтезированных белков, путем включения различных секреторных механизмов [1]. Алейроновый слой злаковых весьма значим в формировании как питательных свойств продуктов переработки и эффективности промышленного солодоращения, так и семенных показателей зерновки. Прорастание семян определяется способностью мобилизации запасных веществ эндосперма. В ответ на действие синтезируемого в зародыше гормона гибберелловой кислоты (ГК₃) алейроновый слой синтезирует гидролазы, секретирующиеся в эндосперм для деградации запасных веществ. Одним из превалирующих ферментов, синтезируемых алейроновым слоем является α -амилаза (3.2.1.1, или 1,4-глюкан-4-глюкогидролаза), участвующая в мобилизации резервного полисахарида – крахмала [2]. На сегодняшний день активно исследуются протеомы алейронового слоя ячменя, как модельные системы растительной сигнальной трансдукции и секреции белков, в частности, α -амилазы [3].

Показано, что максимум секреции, синтезированной алейроном под действием ГК₃ α-амилазы, достигается через 10-12 часов от начала индукции и зависит от наличия ионов Ca²⁺ [2]. В процессе созревания способность алейронового слоя ячменя к синтезу и секреции α-амилазы резко возрастает после 30 дня после цветения и стимулируется подсушиванием зерновки [4]. Особых успехов в изучении механизмов постсинтетической модификации α-амилазы и секреции изоферментов алейронового слоя ячменя добились Р.Л. Джонс и его коллеги.

Ими выявлены не секретируемые предшественники «зрелой» α-амилазы, с уменьшением изоэлектрических точек которых связан их переход в экстрацеллюлярные, т.е. секретируемые изоферменты [5]. При этом отмечена термостабильность секретируемых ферментов в сравнении с внутриклеточными. Этими же авторами использован ионофор моненсин, ингибирующий секрецию α-амилазы, а также выявлен и частично очищен белковый фактор модификации предшественников α-амилазы [6].

В более ранней работе [7] показано ингибирующее влияние антибиотика туникамицина (ТМ) на секрецию α-амилазы алейронового слоя зерна ячменя. Авторы считают, что ТМ препятствует гликозилированию фермента, подавляя его секрецию. В то же время Р.Л. Джонс и соавторы [8] отрицают наличие карбогидратных компонентов в структуре «зрелой» (процессированной) α-амилазы.

Имеются сведения об ингибировании ионофором моненсином секреции α-амилазы щитка зерновки кукурузы [9]. Значительное количество работ посвящено вторичной модификации и секреции α-амилаз риса. Установлено наличие двух различных по структуре гликозидной связи форм α-амилазы секретируемой щитком зерна риса [10]. Как и на ячмене, продемонстрирована стимулирующая роль ионов Ca²⁺ в синтезе и секреции α-амилаз щитка риса.

В связи со сказанным выше, а также значимостью пшеницы как основного хлебопекарного злака нами предпринято исследование особенностей секреции различных форм α-амилазы зерна пшеницы.

Материалы и методы

Объектами исследования служили изолированные алейроновые слои зерновок мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Казахстанская 10.

Алейроновые слои, свободные от крахмала, выделяли в асептических условиях из предварительно замоченных в течение суток семян с удаленными зародышами и инкубировали в лунках 6-гнездных плашек на средах небольшого объема. При изучении влияния продолжительности инкубации на синтез и секрецию α-амилазы изолированные алейроновые слои инкубировали в 5 мМ растворе CaCl₂, содержащем 1 мкМ ГК₃ («Sigma», США) в течение 36 часов.

Амилазную активность определяли крахмал-йодным методом с использованием 0,02 %-го крахмала в качестве субстрата и выражали в единицах активности на 1 мл за 1 час [11]. Для определения активности термолabileйной α-амилазы алейронового слоя в качестве субстрата использовался β-ограниченный декстрин («Megazyme», Ирландия), специфичный для α-амилазы, что позволяет исключить предварительный прогрев ферментного образца при 65°C.

Изоэлектрофокусирование (ИЭФ) α-амилазы проводили на приборе Мультифор («ЛКВ», Швеция) в 1 мм пластинах 5% ПААГ в градиенте амфолинов рН 4-9 («Sigma», США). По окончании ИЭФ гели инкубировали в 1% растворе крахмала в течение 1 часа при +4°C с последующим проявлением зон активности фермента раствором J₂/КJ.

Ферментную активность измеряли в трех аналитических повторностях. Результаты обработаны статистически с вычислением стандартной погрешности среднего.

Результаты и обсуждение

Как отмечалось выше, в литературе практически отсутствуют сведения о секретируемых формах α-амилазы алейронового слоя зерна пшеницы. Имеются лишь сведения о том, что в отсутствие ГК₃ секретируемая беззародышевыми половинками зерна α-амилаза, была термолabileйна. Добавленный в среду инкубации гормон придавал ферменту свойственную α-амилазе стабильность [12].

В наших исследованиях, проведенных на изолированном алейроне в присутствии гормона, показано, что независимо от сроков инкубации (от 24 до 72 часов) в среде отсутствовала термостабильная α -амилаза (рисунок 1 А, Б). Для того чтобы выяснить происходит ли секреция α -амилазы изолированным алейроном под действием ГК₃, были проведены эксперименты с использованием специфичным только для α -амилазы субстратом β -ограниченным декстрином, который позволяет избежать процедуру прогрева (65°C, 15 минут), необходимую для инактивации β -амилазы.

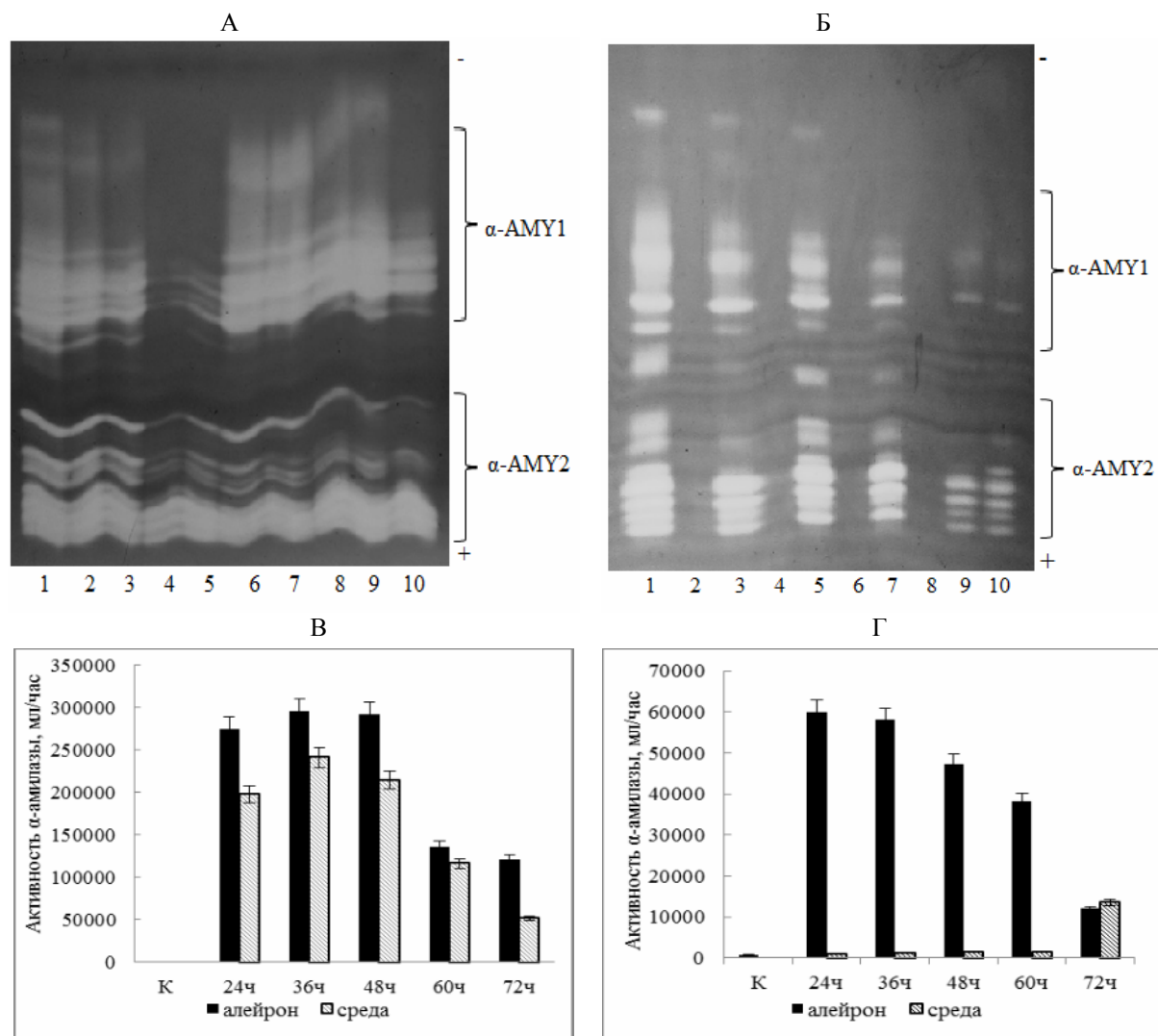


Рисунок 1 – Временная динамика α -амилазы

в изолированном алейроновом слое и инкубационной среде (5 мМ CaCl₂, 1 мкМ ГК₃):

А – изоферментный состав α -амилазы (субстрат 5% β -лимит декстрин); Б – изоферментный состав α -амилазы (прогрев при 65°C 15 мин, субстрат 1,5% крахмал); 1 – алейрон без инкубации (контроль); 2–6 – алейрон после 24, 36, 48, 60 и 72 часов инкубации; 7–11 – среда после 24, 36, 48, 60 и 72 часов инкубации;

В – активность α -амилазы (субстрат 5% β -лимит декстрин); Г – активность α -амилазы (прогрев при 65°C 15 мин, субстрат 1,5% крахмал)

В последующем на изолированных алейроновых слоях было изучено влияние классического ингибитора секреции – ионофора моненсина на α -амилазу внутриклеточных структур и секретируемый фермент при оптимальном времени инкубации – 36 часов (рисунок 2 А, Б). Можно утверждать, что при концентрациях моненсина 2,5-5 мкМ этот ионофор стимулировал как внутриклеточную, так и внеклеточную α -амилазу (рисунок 2 А, Б). Увеличение концентрации ионофора от 10 до 50 мкМ приводило к подавлению обеих формы фермента. Изучено влияние моненсина на термостабильность α -амилазы алейронового слоя при 15 минутном прогреве при 65°C (рисунок 2 А, Б).

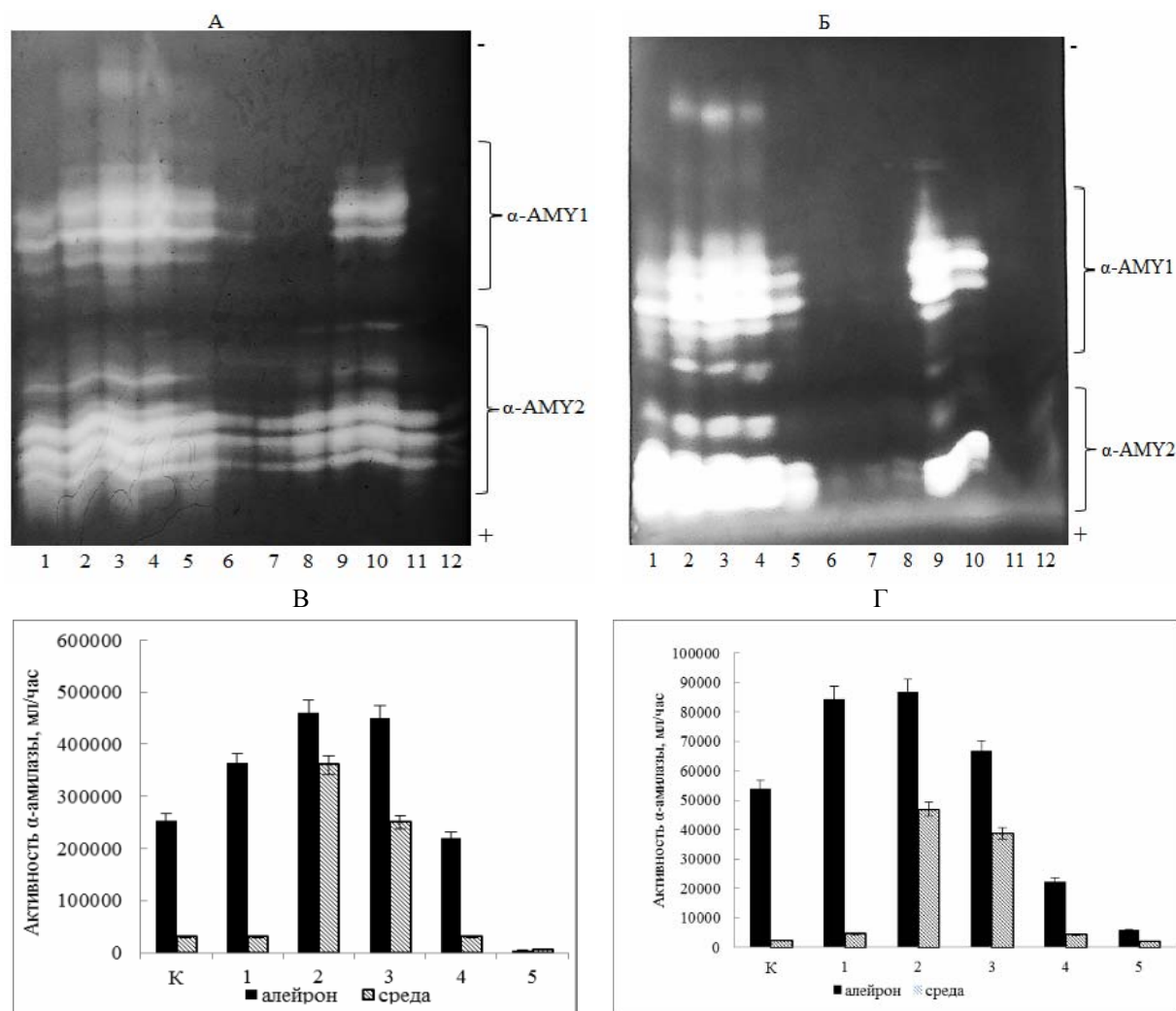


Рисунок 2 – Влияние моненсина на изоферментный состав (А, Б) и активность (В, Г) α -амилазы в изолированном алейроне:

А – ИЭФ α -амилазы (без прогрева, 5% β -лимит декстрина), Б – ИЭФ α -амилазы (прогрев 65° 15 мин, 1,5% крахмал); 1 – инкубация алейрона 36 часов без моненсина, 2–6 – инкубация алейрона 36 часов в присутствии 1, 2,5, 5, 10 и 50 мкМ моненсина; 7 – среда без моненсина, 8–12 – среда с 1, 2,5, 5, 10 и 50 мкМ моненсина; В – активность α -амилазы с β -лимит декстрином; Г – активность α -амилазы (прогрев при 65° 15 мин) с крахмалом; К – алейрон после 36 часов инкубации (контроль), 1–5 – алейрон после 36 часов инкубации в присутствии 1, 2,5, 5, 10 и 50 мкМ моненсина

Наши результаты по изоэлектрофокусированию α -амилазы с использованием субстратов β -ограниченного декстрина и растворимого крахмала наглядно демонстрируют, что ионофор в значительно большей мере действует на термостабильность α -амилазы изолированного алейрона зерна, что еще раз указывает на какие то структурные нарушения, имеющие место при отделении этой ткани от эндосперма.

Вторым общепризнанным ингибитором секреции является антибиотик туникамицин [7–9]. Установлено, что ТМ блокирует первый в формировании долинхольсвязанного предшественника N-связанных олигосахаридов, т.е. является ингибитором гликозилирования по N-типу связывания [1]. Наши эксперименты с ТМ проводились с использованием одной (50 мкг/1 мл среды) концентрации этого агента. Для определения эффективности действия ТМ использовали три варианта его внесения в инкубационную среду: 1 – с самого начала инкубации и до конца (36 часов), 2 – ТМ вносили после 15 часов инкубации с ГК₃, 3 – ТМ после 15 часов инкубации с ГК₃ вносили в свежей порции среды (рисунок 3 А, Б).

Наглядно видно, что туникамицин при изначальном внесении в среду инкубации заметно влиял на активность и термостабильность изоферментов как внутриклеточной, так и секретируемой α -амилазы (рисунок 3 А, 2,6; В 1).

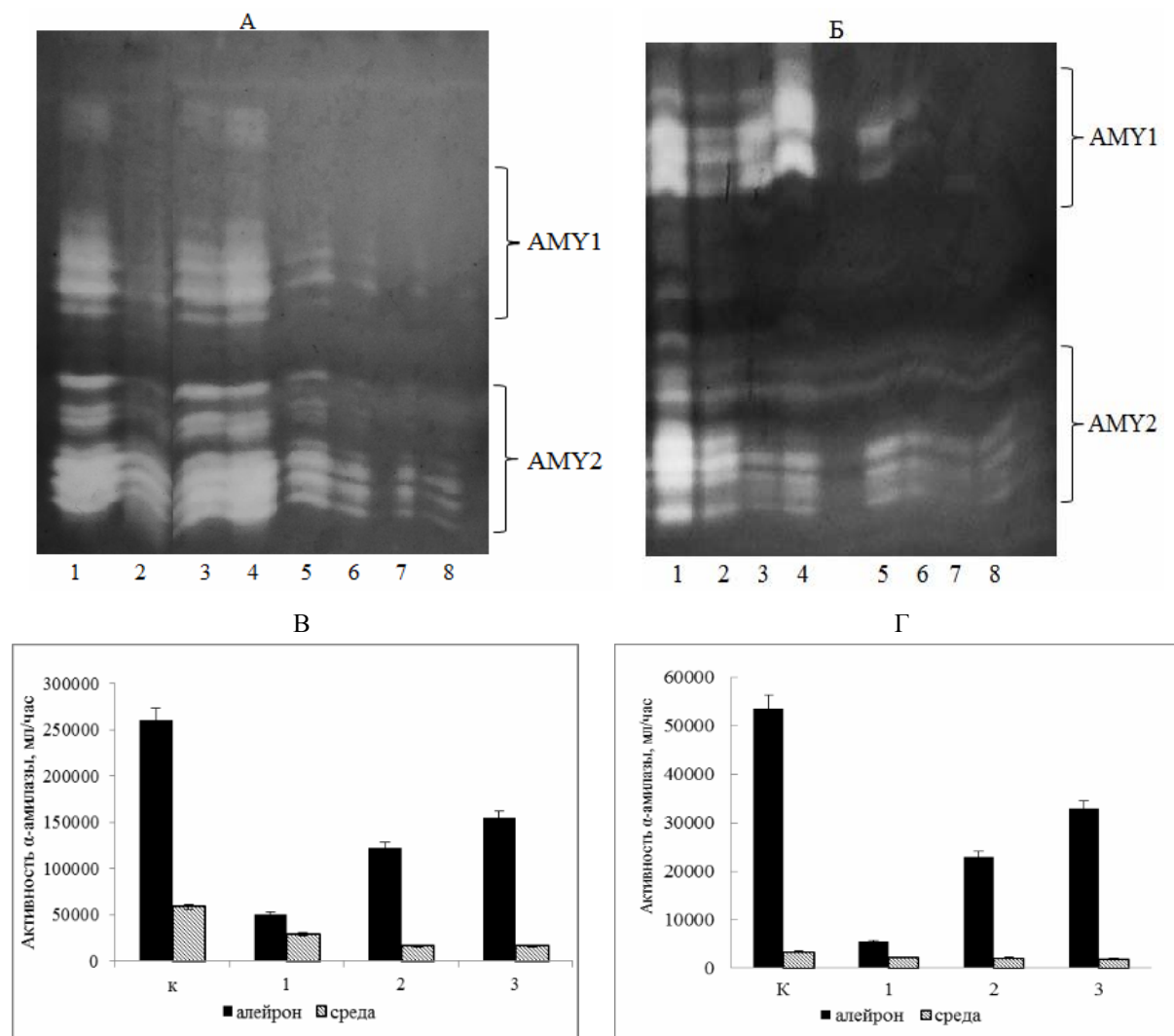


Рисунок 3 – Влияние туникамицина на изоферментный состав (А, Б) и активность (В, Г) α -амилазы в изолированном алейроне пшеницы:

А – ИЭФ α -амилазы (без прогрева, 5% β -лимит декстрин); Б – ИЭФ α -амилазы (прогрев при 65° 15 мин, 1,5% крахмал); 1 – инкубация алейрона 36 часов в отсутствии ТМ; 2 – инкубация алейрона с ТМ 30 часов; 3 – добавление ТМ после 15 часов инкубации алейрона с ГК₃; 4 – добавление ТМ со свежей средой после 15 часов инкубации алейрона с ГК₃; В – активность α -амилазы с β -лимит декстрином; Г – активность α -амилазы (прогрев 65° 15 мин) с крахмалом; К – алеирон (контроль), 1 – алеирон после 30 часов инкубации; 2 – внесение ТМ после 15 часов инкубации алейрона с ГК₃; 3 – внесение ТМ в свежей среде после 15 часов инкубации алейрона с ГК₃

Внесение этого фактора, после 15 часовой инкубации с заменой среды (рисунок 3 А3, В) и без его замены (рисунок 3 А4 и В) несколько подавляло активность внутриклеточного фермента и значительно ингибировало секретируемую α -амилазу. Таким образом варианты с внесением антибиотика в среду инкубации после 15 часов синтеза α -амилазы, указывает на особую эффективность ингибирующего действия этого агента на уже синтезированный в клетках фермент.

Аналогичное исследование по действию ТМ на секрецию α -амилазы алеиронового слоя зерна пшеницы проведено с использованием β -лимит декстрина – субстрата специфичного для α -амилазы, что позволяет исключить процедуру прогрева при 65°С 15 минут. Показано (рисунок 3 Б,Г), что в случае использования специфичного субстрата, во всех вариантах опыта секретиrowались практически все синтезированные (внутриклеточные) изоферменты α -амилазы.

Таким образом, очевидно, что туникамицин подавлял постсинтетическую модификацию фермента, что приводило к снижению его термостабильности. При этом количество секретируемой α -амилазы снижалось незначительно. Наши данные показывают, что в отличие от ячменной [7, 8], пшеничная α -амилаза в процессе секреции претерпевает какие-то модификационные изменения,

связанные с гликозилированием и придающие ферменту термостабильность, что косвенно подтверждается исследованиями А. Хадера и соавторов [12].

Таким образом нами установлено наличие модификационных изменений свойственных секретруемой α -амилазе алейронового слоя зерна пшеницы. При этом показано, что немодифицированный фермент обладал способностью секретироваться, но терял характерную для «зрелой» α -амилазы термостабильность. Кроме того продемонстрировано, что нарушение каких-то структурных взаимодействий между алейроновым слоем и эндоспермом влияет на свойства фермента: α -амилаза теряет термостабильность, т.е. нарушается процесс посттрансляционной модификации. Впервые для злаковых культур установлено положительное влияние некоторых концентраций ионофора моненсина на термостабильность α -амилазы.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Ganesh K.A., Nam-Soo J., Marc-Henri L., Dominique J., Randeep R. Plant secretome: Unlocking secrets of the secreted proteins // *Proteomics*. – 2010. – Vol. 10. – P. 799-827.
- 2 Moll B.A., Jones R.L. α -amylase secretion by single barley aleurone layers // *Plant Physiol.* – 1982. – Vol. 70. – P. 1149-1155.
- 3 Finnie C., Andersen B., Shahpiri A., Svensson B. Proteomes of the barley aleurone layer: A model system for plant signalling and protein secretion // *Proteomics*. – 2011. – Vol. 11. – P. 1595-1605.
- 4 Jiang L., Kermod A.R., Jones R.L. Premature drying increases the GA-responsiveness of developing aleurone layers of barley (*Hordeum vulgare* L.) grain // *Plant Cell Physiol.* – 1996. – Vol. 37(8). – P. 116-1125.
- 5 Jacobsen J.V., Bush D.S., Sticher L., Jones R.L. Evidence for precursor forms of the low isoelectric point α -amylase isozymes secreted by aleurone cells // *Plant Physiol.* – 1988. – Vol. 88. – P. 1168-1174.
- 6 Sticher L., Jones R.L. Isolation and partial characterization of a factor from barley aleurone that modifies α -amylase *in vitro* // *Plant Physiol.* – 1991. – Vol. 97. – P. 936-942.
- 7 Jones R.L., Bush D.S. Gibberellic acid regulates the level of a BIP cognate in the endoplasmic reticulum of barley aleurone cells // *Plant Physiol.* – 1991. – Vol. 97. – P. 456-459.
- 8 Sticher L., Jones R.L. α -amylase isoforms are posttranslationally modified in the endomembrane system of the barley aleurone layer // *Plant Physiol.* – 1992. – Vol. 98. – P. 1080-1086.
- 9 Stisher L., Jones R.L. Monensin inhibits the secretion of α -amylase but not polysaccharide slime from seedling tissues of *Zea mays* // *Protoplasma*. – 1988. – Vol. 142. – P. 36-45.
- 10 Mitsui T. and Akazawa T. Secondary modification of carbohydrate chains in α -amylase molecules synthesized in rice scutellum // *Physiol. vegetale*. – 1986. – Vol. 24(6). – P. 629-638.
- 11 Гильманов М.К., Фурсов О.В., Францев А.П. Методы очистки и изучения ферментов растений. – Алма-Ата: Наука, 1981. – С. 91.
- 12 Hader A., Rikiishi K., Nisar A., Noda K. Characteristics of α -amylase induced in distal half-grains of wheat // *Breeding Sci.* – 2003. – Vol. 53. – P. 119-124.

REFERENCES

- 1 Ganesh K.A., Nam-Soo J., Marc-Henri L., Dominique J., Randeep R. *Proteomics*. 2010. Vol. 10. P. 799-827.
- 2 Moll B.A., Jones R.L. *Plant Physiol*, 1982, Vol. 70. P.1149-1155.
- 3 Finnie C., Andersen B., Shahpiri A., Svensson B. *Proteomics*. 2011. Vol. 11. P. 1595-1605.
- 4 Jiang L., Kermod A.R., Jones R.L. *Plant Cell Physiol*. 1996. Vol. 37(8). P. 116-1125.
- 5 Jacobsen J.V., Bush D.S., Sticher L., Jones R.L. *Plant Physiol*. 1988. Vol. 88. P. 1168-1174.
- 6 Sticher L., Jones R.L. *Plant Physiol*. 1991. Vol. 97. P. 936-942.
- 7 Jones R.L., and Bush D.S. *Plant Physiol*. 1991. Vol. 97. P. 456-459.
- 8 Sticher L., Jones R.L. *Plant Physiol*. 1992. Vol. 98. P. 1080-1086.
- 9 Stisher L., Jones R.L. *Protoplasma*. 1988. Vol. 142. P. 36-45.
- 10 Mitsui T., Akazawa T. *Physiol. vegetale*. 1986. Vol. 24(6). P. 629-638.
- 11 Gilmanov M.K., Fursov O.V., Francev A.P. *Alma-Ata: Nauka*, 1981. S. 92 (in Russ).
- 12 Hader A., Rikiishi K., Nisar A., Noda K. *Breeding Sci*. 2003. Vol. 53. P. 119-124.

Резюме

Н. С. Мамытова¹, К. Қ. Богысбаев², О. В. Фурсов¹

¹М. Ә. Айтқожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты, Алматы, Қазақстан,
²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан)

БИДАЙДЫҢ АЛЕЙРОН ҚАБАТЫНДАҒЫ α -АМИЛАЗА СЕКРЕЦИЯСЫНЫҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

Бидайдың алейрон қабатындағы жасушаішілік (синтезделген) және жасушадан тыс (секреттелген) α -амилазаның белсенділігі мен электрофоретикалық спектрін зерттеу – ерітілген крахмал және β -лимит декстрин

екі типті субстратының көмегімен жүргізілді. Жеке бөлініп алынған және интактты алейрон өндірген фермент изоформаларының термотұрақтылығының арасында айырмашылықтар анықталды. Тәжірибе нәтижелері негізінде гликолиздеу ингибиторлары моненсин және туникамицинді қолдана отырып, бидай α -амилазасы изоферментінің постсинтетикалық түрлену кезеңінің ферменттің пісіп-жетілген формаларына термотұрақтылықты беретін маңызының зор екендігіне қорытынды жасалды.

Тірек сөздер: алейрон, α -амилаза, изоферменттер, секреция, синтез.

Summary

¹N.S. Mamytova, ²K.K. Boguspayev, ¹O.V. Fursov

(¹M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Almaty,
²al-Farabi Kazakh National university, Almaty)

FEATURES OF α -AMYLASE SECRETION OF THE WHEAT ALEURONE LAYER

The activity and electrophoretic spectra of intracellular (synthetic) and extracellular (secreted) α -amylase of wheat aleurone layer with the two types of substrate - soluble starch and β -limit dextrin were studied. The essential differences in the thermal stability of the enzyme isoforms produced isolated and intact aleurone were established. On the basis of the experimental data with the use of inhibitors of glycosylation monensin and tunicamycin the importance step of postsynthetic modification isoenzymes of wheat α -amylase for thermal stability of mature forms of the enzyme is concluded.

Keywords: aleurone, α -amylase isozymes, secretion, synthesis.

Поступила 21.08.2014 г.

УДК 577.21

Р. Е. НИЯЗОВА, О. А. БЕРИЛЛО, Ш. А. АТАМБАЕВА, А. Т. ИВАЩЕНКО

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан. E-mail: raiguln@mail.ru)

СВОЙСТВА miRNA СПЕЦИФИЧНЫХ ДЛЯ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РАЗВИТИИ МЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Аннотация. Изучено связывание miRNA¹ человека с mRNA генов, участвующих в развитии мелкоклеточного рака легкого. Найдены сайты связывания miRNA с mRNA 36 генов, локализованных в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA. В работе показано, что уникальные miRNA имеют сайты связывания с mRNA генов, экспрессия которых меняется при мелкоклеточном раке легкого. miR-1273f, miR-1273g-3p, miR-466, miR-3960, miR-574-5p, miR-619 связываются с несколькими генами, со значением $\Delta G/\Delta G_m$ равным и более 90%. Некоторые из этих miRNA имеют от двух до восьми упорядоченных сайтов связывания. Полученные данные по влиянию miRNA на экспрессию mRNA генов, участвующих в онкогенезе, способствуют разработке методов ранней диагностики мелкоклеточного рака легкого.

Ключевые слова: ген, miRNA, mRNA, мелкоклеточный рак легкого.

Тірек сөздер: ген, miRNA, mRNA, өкпенің ұсақ жасушалық обыры.

Keywords: gene, miRNA, mRNA, small cell lung cancer.

Мелкоклеточный рак легкого (small-cell lung cancer, SCLC) является самым агрессивным субтипом рака легкого. В мире ежегодно диагностируется более 15% новых случаев SCLC среди всех субтипов рака легкого и около 25% больных умирает от этого заболевания [1, 2]. Несмотря на

¹Сокращения: mRNA – матричная РНК; miRNA – микроРНК; 3'UTR – 3'-нетранслируемая часть mRNA; 5'UTR – 5'-нетранслируемая часть mRNA, CDS – белок-кодирующая часть mRNA.

активные исследования, проводимые в данной области, молекулярные характеристики SCLC не достаточно хорошо изучены и отсутствует ранняя диагностика этого заболевания.

miRNA являются ключевыми регуляторами различных физиологических процессов и участвуют в развитии патологий, включая развитие опухоли и метастазирование [3]. В связи с чем, необходимо установить особенности связывания miRNA с mRNA генов, экспрессия которых изменяется при SCLC. Обычно одна miRNA связывается только с одной или несколькими mRNA, а некоторые mRNA имеют по несколько сайтов связывания с miRNA. Недавно обнаружены уникальные miRNA, имеющие по несколько сот генов-мишеней, с mRNA которых они связываются с высоким сродством. Сайты связывания этих уникальных miRNA упорядоченно расположены в 3'-нетранслируемой области mRNA (3'UTR), белок-кодирующей области (CDS) и 5'-нетранслируемой области (5'UTR) [4-6]. Представляется важным установить, какие miRNA и в какой степени связываются с mRNA генов, участвующих в развитии SCLC. Эти сведения необходимы для разработки методов ранней диагностики SCLC и будут способствовать улучшению лечения этого заболевания.

Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности mRNA генов человека получены из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) с использованием компьютерной программы Lextractor002 (<http://sites.google.com/site/malaheene/software>). miRNA взяты из miRBase (<http://mirbase.org>). Поиск генов-мишеней для miRNA проводили, используя программу MirTarget, написанную в нашей лаборатории. Программа определяет: начало сайтов связывания miRNA с mRNA; расположение сайтов в 5'UTR, в CDS и в 3'UTR mRNA; свободную энергию гибридизации (ΔG , kJ/mole) и схемы взаимодействия нуклеотидов miRNA с mRNA. Для каждого сайта рассчитывали отношение $\Delta G/\Delta G_m$ (%), где ΔG_m равна свободной энергии связывания miRNA с полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. Сайты связывания miRNA с mRNA отбирали с отношением $\Delta G/\Delta G_m$ равным и более 90%. Начало сайтов связывания указано от первого нуклеотида 5'UTR mRNA. Особенностью программы MirTarget является учет взаимодействия нуклеотидов miRNA с mRNA генов-мишеней не только между аденином (A) и урацилом (U), гуанином (G) и цитозином (C), G-U, но и между A и C посредством одной водородной связи [7] на основании того, что расстояние между A и C равно расстоянию между нуклеотидами G-C, A-U, G-U [8].

Результаты и обсуждение

Нами выявлено 36 генов с измененной экспрессией в SCLC. Из них 28 генов повышено экспрессируются при SCLC [9-13]. Четыре гена (*AXL*, *BCL2*, *ING1*, *NLK*) ответственны за апоптоз, четыре гена (*CDK6*, *EGFR*, *EZH2*, *RBI*) связаны с клеточным циклом и 13 генов (*ASCL1*, *E2F1*, *E2F2*, *E2F3*, *ID2*, *INSM1*, *JUNB*, *PRDM2*, *PTRF*, *SMAD4*, *SOX11*, *SUZ12*, *TP53*) являются транскрипционными факторами. Перечисленные гены, особенно транскрипционные факторы, участвуют в двух и более процессах, приводящих в развитию SCLC. Например, белки генов *BCL2*, *LAMC1* принимают участие в адгезии, *CDK6* – в P53-сигнальном пути, *ASCL1* – в PPAR-сигнальном пути [14-16]. Белок *BCL2* обладает антиапоптозным действием [17]. *CDK6* регулирует активность опухолевого супрессора Rb, экспрессия которого изменяется при некоторых видах рака, в том числе при SCLC [18]. Белки семейства генов *E2F* играют важную роль в контроле клеточного цикла и в функционировании супрессорных белков опухолевых клеток [19]. Ген *ING1* кодирует белок, индуцирующий остановку роста клеток и апоптоз [20]. Сверхэкспрессия фактора транскрипции p53 может индуцировать остановку клеточного цикла и апоптоза через регуляцию транскрипции некоторых генов [21].

Выявленные 39 генов, участвующих в развитии SCLC, являются мишенями для нескольких miRNA (таблица 1 и 2). Кроме miRNA, концентрация которых изменяется при раке легкого [22-24], нами найдены уникальные miRNA эффективно связывающиеся с генами, участвующими в развитии SCLC [4-6]. Например, miR-1273f, miR-1273g-3p, miR-466, miR-3960, miR-574-5p, miR-619 связываются с mRNA нескольких генов, экспрессия которых меняется при SCLC, со значением $\Delta G/\Delta G_m$ равным 90% и более (таблица 1). mRNA некоторых из этих генов имеют от двух до восьми упорядоченно расположенных сайтов связывания. Наибольшее количество сайтов связывания с разными miRNA имеют mRNA генов *SOX11*, *ASCL1*, *CDK6*, *STMN1*. mRNA генов *E2F2*, *ERCC1*, *SMAD4*, *STMN1* имеют сайты связывания с miR-1273g-3p, которые расположены в 3'UTR.

Таблица 1 – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, повышенно экспрессирующихся при SCLC

Ген	Характеристики связывания miRNA
<i>ASCL1</i>	miR-1281, 328 ⁵ , 91; 330 ⁵ , 91; miR-5739, 138 ⁵ , 92; miR-6817-3p, 1933 ^C , 92; miR-6878-3p, 4490 ³ , 91; miR-4317, 3821 ^C , 90; miR-23a-3p, 3820 ^C , 90; miR-4271, 153 ⁵ , 90; miR-1279, 7196 ³ , 90; miR-3652, 1173 ^C , 90.
<i>BCL2</i>	miR-1343-5p, 605 ^C , 90.
<i>CDK6</i>	miR-466, 1895-1917 (8) ³ , 91-93; miR-548aq-3p, 1677 ³ , 94; miR-548az-3p, 1677 ³ , 94; miR-1238-3p, 653 ^C , 92; miR-548h-3p, 1676 ³ , 91; miR-548z, 1676 ³ , 91; miR-548ah-3p, 1677 ³ , 90; miR-4455, 6950 ³ , 90; miR-1468-3p, 10596 ³ , 90.
<i>COL4A1</i>	miR-4259, 3541 ^C , 93; miR-4260, 3535 ^C , 92; miR-1825, 2156 ^C , 92; miR-4293, 1248 ^C , 91; miR-4266, 1442 ^C , 91; miR-4306, 160 ^C , 90.
<i>DSCAM</i>	miR-665, 4045 ^C , 93; miR-7847-3p, 6302 ^C , 91; miR-6727-3p, 5297 ^C , 91; miR-6801-3p, 432 ⁵ , 91; miR-4279, 394 ⁵ , 91; miR-5189-5p, 30 ⁵ , 91; miR-4695-5p, 30 ⁵ , 90.
<i>E2F1</i>	miR-3960, 88 ⁵ , 92; miR-6511b-3p, 2326 ³ , 93; miR-4251, 1846 ³ , 93; miR-6511a-3p, 2327 ³ , 91; miR-4749-3p, 2322 ³ , 91; miR-6813-3p, 2537 ³ , 91; miR-6786-5p, 267 ^C , 90; miR-1913, 29 ⁵ , 90.
<i>E2F2</i>	miR-1273g-3p, 4127 ³ , 96; miR-1273f, 4160 ³ , 92; miR-4534, 39 ⁵ , 96; miR-760, 624 ^C , 93; miR-5684, 4121 ³ , 92; miR-4539, 1406 ^C , 90; miR-548m, 2091 ³ , 90.
<i>E2F3</i>	miR-1281, 376 ^C , 91; miR-1279, 848 ^C , 90.
<i>ERCC1</i>	miR-1273e, 2654 ³ , 96; miR-1273g-3p, 2611 ³ , 93; miR-4266, 2176 ³ , 91; miR-6074, 3025 ³ , 90.
<i>EZH2</i>	miR-7162-3p, 1168 ^C , 90; miR-4258, 115 ⁵ , 90.
<i>GRP</i>	miR-6086, 46 ⁵ , 91.
<i>ID2</i>	miR-3713, 492 ^C , 90.
<i>ING1</i>	miR-762, 594 ³ , 92; miR-4266, 1426 ^C , 91; miR-4310, 328 ⁵ , 90; miR-1268a, 666 ⁵ , 90; miR-4532, 863 ⁵ , 90; miR-378b, 150 ⁵ , 90.
<i>INSM1</i>	miR-3960, 708 ^C , 750 ^C , 90; miR-6724-5p, 539 ^C , 91; miR-1268a, 42 ⁵ , 90; miR-3656, 1101 ^C , 90; miR-4519, 221 ^C , 90; miR-6499-5p, 1649 ^C , 90; miR-4497, 14 ⁵ , 90.
<i>JUNB</i>	miR-4532, 1214 ^C , 90; miR-1260b, 616 ^C , 90.
<i>LAMC1</i>	miR-4458, 6816 ³ , 91; miR-1282, 4665 ^C , 90; miR-4258, 34 ⁵ , 90.
<i>MAP3K4</i>	miR-1281, 33 ⁵ , 93; miR-3960, 213 ^C , 92.
<i>MYC</i>	miR-1227-5p, 28 ⁵ , 94; miR-6761-5p, 988 ^C , 91.
<i>NLK</i>	miR-574-5p, 2144-2152 (5) ³ , 93; miR-4290, 2312 ³ , 92.
<i>PCDHAI</i>	miR-3681-5p, 295 ^C , 91; miR-4251, 133 ^C , 91; miR-6845-5p, 3160 ³ , 90.
<i>PRDM2</i>	miR-4463, 5473 ^C , 91; miR-1281, 1655 ^C , 91; 1671 ^C , 91; miR-6124, 6489 ³ , 90; miR-1227-5p, 3896 ^C , 90; miR-556-3p, 1894 ^C , 90; miR-1297, 6036 ³ , 90; miR-6879-5p, 6488 ³ , 90.
<i>RAD51</i>	miR-5585-3p, 2099 ³ , 91; miR-3925-3p, 1650 ³ , 94.
<i>SMAD4</i>	miR-574-5p, 7743-7755 (7) ³ , 93; miR-1273g-3p, 4311 ³ , 95; miR-1273f, 4344 ³ , 92; miR-5579-5p, 5307 ³ , 90; miR-3195, 338 ⁵ , 90; miR-1972, 4551 ³ , 90.
<i>SOX11</i>	miR-4257, 4853 ³ , 94; miR-1181, 672 ^C , 92; miR-1260b, 1492 ³ , 92; miR-6812-3p, 3746 ³ , 91; miR-1251-5p, 3417 ³ , 91; miR-4306, 3242 ³ , 90; miR-6763-5p, 4851 ³ , 90; miR-4426, 2823 ³ , 90; miR-4292, 4155 ³ , 90; miR-4258, 482 ^C , 90; miR-4271, 3242 ³ , 90; miR-296-3p, 4841 ³ , 90; miR-1279, 7626 ³ , 90; miR-5008-3p, 3689 ³ , 90.
<i>STMN1</i>	miR-1273g-3p, 1750 ³ , 93; miR-5585-5p, 1830 ³ , 91; miR-1285-3p, 1733 ³ , 91; miR-1972, 1990 ³ , 95; miR-1268a, 1854 ³ , 94; miR-4261, 2009 ³ , 93; miR-566, 1840 ³ , 92; miR-550a-3-5p, 1342 ³ , 90; miR-593-3p, 1227 ³ , 90.
<i>SUZ12</i>	miR-6124, 70 ⁵ , 96; miR-7847-3p, 381 ^C , 93; miR-4800-5p, 108 ⁵ , 93; miR-4255, 3570 ⁵ , 90.
<i>TCF4</i>	miR-4488, 292 ⁵ , 92; miR-5196-5p, 363 ⁵ , 92; miR-4442, 2550 ^C , 91; miR-6852-3p, 785 ^C , 91; miR-6126, 288 ⁵ , 90; miR-302f, 4955 ³ , 90.
<i>TIAM1</i>	miR-1281, 4801 ^C , 93.
<i>TP53</i>	miR-1273c, 2296 ³ , 91; miR-1273h-5p, 2350 ³ , 91; miR-1285-3p, 2300 ³ , 95; miR-1227-5p, 647 ^C , 92; miR-4314, 2518 ³ , 91.
<i>Примечание.</i> В таблицах 1 и 2 последовательно расположены: miRNA, позиция сайта связывания miRNA в mRNA (нт), величина $\Delta G/\Delta G_m$ (%); ⁵ , ^C и ³ – сайты локализованы в 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно.	

mRNA *TP53* является мишенью для miR-1285 и семейства miR-1273. mRNA генов *E2F1*, *MAP3K4* имеют упорядоченные сайты связывания с miR-3960 в 5'UTR и в CDS, соответственно. mRNA гена *INSM1* имеет парные сайты связывания с miR-3960, расположенные в CDS. mRNA

генов *NLK*, *SMAD4*, *CDK6* имеют множественные сайты связывания с некоторыми miRNA. Например, 3'UTR mRNA *NLK* и *SMAD4* имеют по пять и семь упорядоченных сайтов связывания с miR-574-5p, соответственно. Восемь упорядоченных сайтов связывания miR-466 расположены в 3'UTR mRNA гена *CDK6*. Гены *STNMI* и *RAD51* являются мишенями для уникальных miR-5585 и miR-1285, которые связываются в 3'UTR mRNA. miR-1281 имеет парные сайты связывания с mRNA генов *ASCL1*, *PRDM2*. Величина свободной энергии взаимодействия для уникальных miR-1273g-3p и miR-1273e, составляет 96% от максимальной энергии связывания. Для генов *AXL*, *EGFR*, *EPHB4*, *PTK2B*, *PTRF*, *RBI*, *SSTR2*, *THBD* отмечена пониженная экспрессия при SCLC [25-26]. Установлено, что mRNA генов, которые имеют пониженную экспрессию при SCLC, образуют сайты связывания с некоторыми miRNA при отношении $\Delta G/\Delta G_m$ более 90% (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, которые пониженно экспрессируются при SCLC

Ген	Характеристики связывания miRNA
<i>AXL</i>	miR-1273g-3p, 3322 ³ , 98; miR-1273f, 3355 ³ , 94; miR-6086, 2791 ^C , 94; miR-7152-3p, 2619 ^C , 94; miR-3156-3p, 1804 ^C , 90; miR-6743-5p, 123 ⁵ , 90; miR-3929, 3517 ³ , 90.
<i>EGFR</i>	miR-525-5p, 1853 ^C , 91; miR-4323, 1168 ^C , 90; miR-7155-5p, 3155 ^C , 90.
<i>EPHB4</i>	miR-4463, 1184 ^C , 98; miR-4535, 686 ^C , 93; miR-4419a, 49 ⁵ , 93; miR-1268a, 86 ⁵ , 92; miR-4257, 176 ⁵ , 92; miR-6787-5p, 168 ⁵ , 92; miR-4486, 1343 ^C , 91; miR-6730-3p, 3829 ³ , 91; miR-5701, 2966 ^C , 91; miR-6845-5p, 3524 ³ , 90; miR-1237-5p, 274 ⁵ , 90; miR-4519, 3529 ³ , 90; miR-6126, 74 ⁵ , 90; miR-648, 335 ⁵ , 90.
<i>PTK2B</i>	miR-6817-3p, 2874 ^C , 92; miR-4319, 1518 ^C , 91; miR-3917, 6 ⁵ , 91.
<i>PTRF</i>	miR-619-5p, 2155 ³ , 95, 2303 ³ , 91; miR-1285-5p, 2410 ³ , 92; miR-4507, 176 ⁵ , 91; miR-6890-3p, 299 ^C , 91; miR-4455, 1014 ^C , 90; miR-4505, 171 ⁵ , 90.
<i>RBI</i>	miR-3960, 223 ^C , 92; miR-4736, 276 ^C , 90.
<i>SSTR2</i>	miR-619-5p, 2692 ³ , 91; miR-5096, 2766 ³ , 98; miR-4674, 181 ⁵ , 90.
<i>THBD</i>	miR-320e, 1930 ³ , 93; miR-4319, 1502 ^C , 91; miR-4507, 1643 ^C , 91; miR-4310, 1130 ^C , 90; miR-4302, 217 ^C , 90; miR-4999-3p, 3788 ³ , 90.

Наибольшее количество (14) сайтов связывания с разными miRNA имеет mRNA гена *EPHB4*. mRNA гена *AXL* имеет сайт связывания с miR-1273g-3p в 3'UTR, гена *RBI* – сайт связывания с miR-3960 в CDS. mRNA генов *PTRF*, *SSTR2* имеют парные сайты связывания с miR-619 в 3'UTR. Ген *PTRF* является мишенью для miR-1285, ген *SSTR2* – для miR-5096. Они связываются с 3'UTR mRNA генов. Величина свободной энергии взаимодействия для miR-1273g-3p и miR-5096 составляет 98% от максимальной энергии связывания.

Изменения концентрации miRNA могут сильно влиять на экспрессию генов, участвующих в развитии SCLC. При изменении экспрессии генов miRNA может нарушаться течение метаболических процессов, реализация программы развития организма, ответ организма на разные воздействия и т.д., что может привести к развитию различных патологий, в том числе, к онкологическим заболеваниям. Например, показано, что сверхэкспрессия miR-3960 способствует BMP2-индуцированному остеобластогенезу [27]. Понижение экспрессии miR-1285 значительно ингибирует пролиферацию, инвазию и миграцию клеток карциномы почки. miR-1285 выявлена как потенциальный биомаркер рака простаты [23]. miR-574-5p повышенно экспрессируется при раке легкого человека [24]. miR-1281 вместе с некоторыми другими miRNA подавляются в двух типах опухоли желчного пузыря [28].

Из таблицы 2 видно, что девять miRNA miR-466, miR-548aq-3p, miR-548az-3p, miR-1238-3p, miR-548h-3p, miR-548z, miR-548ah-3p, miR-4455 и miR-1468-3p могут влиять на экспрессию *CDK6*. Активность гена *EZH2* может контролироваться miR-7162-3p и miR-4258. Вероятно, при пониженных концентрациях соответствующих miRNA, гены, участвующие в клеточном цикле повышенно экспрессируются, что приводит к развитию SCLC.

miR-1273g-3p, miR-1273f, miR-6086, miR-7152-3p, miR-3156-3p, miR-6743-5p, miR-3929 могут влиять на активность гена *AXL* (таблица 2). Следовательно, эти miRNA повышенно экспресси-

руются и могут воздействовать на ген *AXL*, подавляя апоптоз, и способствовать онкогенезу. Повышенная экспрессия гена *BCL2*, регулируемая miR-1343-5p и пониженная экспрессия *RBI*, регулируемая miR-3960 и miR-4736 способствуют онкогенезу за счет ингибирования апоптоза.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о регуляции определенными miRNA экспрессии генов, участвующих в развитии SCLC, что позволяет предложить их в качестве диагностических маркеров этого заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Stupp R., Monnerat C., Turrisi A.T., et al. Small cell lung cancer: state of the art and future perspectives // *Lung Cancer*. – 2004. – Vol. 45. – P. 105-117.
- 2 Sher T., Dy G.K., Adjei A.A. Small cell lung cancer // *Mayo Clin Proc*. – 2008. – Vol. 83. – P. 355-367.
- 3 Zagryazhskaya A., Zhivotovsky B. miRNAs in lung cancer: A link to aging // *Ageing Research Reviews*. – 2014. – <http://dx.doi.org/10.1016>.
- 4 Атамбаева Ш.А., Берилло О.А., Иващенко А.Т., Пыrkova А.Ю., Ниязова Р.Е. Особенности сайтов связывания miR-1285-3p, miR-5684 и семейства miR-1273 с mRNA генов человека // *Вестник КазНУ. Серия биол.* – 2013. – Т. 3, № 1(59). – С. 243-247.
- 5 Ниязова Р.Е., Берилло О.А., Атамбаева Ш.А., Пыrkova А.Ю., Иващенко А.Т. Сайты связывания miR-3960, miR-3620-5p и miR-8072 с mRNA генов человека участвующих в онкогенезе // «Биотехнология и качество жизни» матер. межд. конф. – М., 2014. – С. 45-46.
- 6 Ivashchenko A.T., Berillo O.A., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y. The arrangements of the locations of miR-619, miR-5095, miR-5096 and miR-5585 binding sites in the human mRNAs // *Proceedings of the inter. conf. on Biology and Biomedical Engineering*. – Venice, Italy, 2014. – P. 144-150.
- 7 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. – 2001. – Vol. 30. – P. 1-22.
- 8 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices // *Nucleic Acids Res*. – 2002. – Vol. 30. – P. 3497-3531.
- 9 Taniwaki M., Daigo Y., Ishikawa N., et al. Gene expression profiles of small-cell lung cancers: molecular signatures of lung cancer // *Int J Oncol*. – 2006. – Vol. 29. – P. 567-575.
- 10 Coe B.P., Lockwood W.W., Girard L., et al. Differential disruption of cell cycle pathways in small cell and non-small cell lung cancer // *British Journal of Cancer*. – 2006. – Vol. 94. – P. 1927-1935.
- 11 Dy P., Penzo-Mendez A., Wang H., et al. The three SoxC proteins–Sox4, Sox11 and Sox12–exhibit overlapping expression patterns and molecular properties // *Nucleic Acids Res*. – 2008. – Vol. 36. – P. 3101-3117.
- 12 Zheng Z., Chen T., Li X., et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer // *N Engl J Med*. – 2007. – Vol. 356(8). – P. 800-808.
- 13 Takahashi T., Obata Y., Sekido Y., et al. Expression and amplification of Myc gene family in small cell lung cancer and its relation to biological characteristics // *Cancer research*. – 1989. – Vol. 49. – P. 2683-2688.
- 14 Campos E.I., Chin M.Y., Kuo W.H., Li G. Biological functions of the ING family tumor suppressors // *Cell Mol Life Sci*. – 2004. – Vol. 61. – P. 2597-2613.
- 15 Lundberg A.S., Weinberg R.A. Control of the cell cycle and apoptosis // *Eur J Cancer*. – 1999. – Vol. 35. – P. 1886-1894.
- 16 Hoser M., Potzner M.R., Koch J.M., et al. Sox12 deletion in the mouse reveals nonreciprocal redundancy with the related Sox4 and Sox11 transcription factors // *Mol Cell Biol*. – 2008. – Vol. 28. – P. 4675-4687.
- 17 Mei H., Lin Z., Wang Y., et al. Autophagy inhibition enhances pan-Bcl-2 inhibitor AT-101-induced apoptosis in non-small cell lung cancer // *Neoplasia*. – 2014. – Vol. 61(2). – P. 186-192.
- 18 Harbour J.W., Luo R.X., Dei Santi A., et al. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1 // *Cell*. – 1999. – Vol. 17, N 98(6). – P. 859-869.
- 19 Wu C., Zhu J., Zhang X. Network-based differential gene expression analysis suggests cell cycle related genes regulated by E2F1 underlie the molecular difference between smoker and non-smoker lung adenocarcinoma // *BMC Bioinformatics*. – 2013. – Vol. 17, N 14. – P. 365.
- 20 Ly Y., Purbey B.K., Huang Y., et al. Adenovirus-mediated expression of p33 (ING1b) induces apoptosis and inhibits proliferation in gastric adenocarcinoma cells in vitro // *Gastric Cancer*. – 2012. – Vol. 15(4). – P. 355-362.
- 21 Jiang P., Du W., Yang X. p53 and regulation of tumor metabolism // *J Carcinog*. – 2013. – Vol. 12. – P. 21.
- 22 Yanaihara N., Caplen N., Bowman E., et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis // *Cancer Cell*. – 2006. – Vol. 9. – P. 189-198.
- 23 Tian S., Huang S., Wu S., et al. MicroRNA-1285 inhibits the expression of p53 by directly targeting its 3'untranslated region // *Biochem Biophys Res Com*. – 2010. – Vol. 396. – P. 435-439.
- 24 Li Q., Li X., Guo Z., et al. MicroRNA-574-5p was pivotal for TLR9 signaling enhanced tumor progression via down-regulating checkpoint suppressor 1 in human lung cancer // *Plos One*. – 2012. – Vol. 7(11). – e48278.
- 25 Tatematsu A., Shimizu J., Murakami Y., et al. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Small Cell Lung Cancer // *Clin Cancer Res*. – 2008. – Vol. 14. P. 6092-6096.
- 26 Sutherland K.D., Proost N., Brouns I., et al. Cell of origin of small cell lung cancer: inactivation of Trp53 and Rb1 in distinct cell types of adult mouse lung // *Cancer Cell*. – 2011. – Vol. 19. – P. 754-764.
- 27 Hu R.A. Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation // *J Biol Chem*. – 2011. – Vol. 286. – P. 12328-12339.

28 Pignot G., Cizeron-Clairac G., Vacher S., et al. microRNA expression profile in a large series of bladder tumors: identification of a 3-miRNA signature associated with aggressiveness of muscle-invasive bladder cancer // *Int J Cancer*. – 2013. – Vol. 132(11). – P. 2479-2491.

REFERENCES

- 1 Stupp R., Monnerat C., Turrisi A.T., et al. Small cell lung cancer: state of the art and future perspectives. *Lung Cancer*. 2004. Vol. 45. P. 105-117.
- 2 Sher T., Dy G.K., Adjei A.A. Small cell lung cancer. *Mayo Clin Proc*. 2008. Vol. 83. P. 355-367.
- 3 Zagryazhskaya A., Zhivotovsky B. miRNAs in lung cancer: A link to aging. *Ageing Research Reviews*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016>.
- 4 Atambaeva Sh.A., Berillo O.A., Ivashhenko A.T., Pyrkova A.Ju., Nijazova R.E. Osobennosti sajtov svjazyvanija miR-1285-3p, miR-5684 i semejstva miR-1273 s mRNA genov cheloveka. *Vestnik KazNU. Cerija biol*. 2013. T. 3, № 1(59). S. 243-247.
- 5 Nijazova R.E., Berillo O.A., Atambaeva Sh.A., Pyrkova A.Ju., Ivashhenko A.T. Sajty svjazyvanija miR-3960, miR-3620-5r i miR-8072 s mRNA genov cheloveka uchastvujushih v onkogeneze. *Biotehnologija i kachestvo zhizni: mater. mezhd. konf. M.*, 2014. S. 45-46.
- 6 Ivashchenko A.T., Berillo O.A., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y. The arrangements of the locations of miR-619, miR-5095, miR-5096 and miR-5585 binding sites in the human mRNAs. *Proceedings of the inter. conf. on Biology and Biomedical Engineering. Venice, Italy*, 2014. P. 144-150.
- 7 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. 2001. Vol. 30. P. 1-22.
- 8 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices. *Nucleic Acids Res*. 2002. Vol. 30. P. 3497-3531.
- 9 Taniwaki M., Daigo Y., Ishikawa N., et al. Gene expression profiles of small-cell lung cancers: molecular signatures of lung cancer. *Int J Oncol*. 2006. Vol. 29. P. 567-575.
- 10 Coe B.P., Lockwood W.W., Girard L., et al. Differential disruption of cell cycle pathways in small cell and non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer*. 2006. Vol. 94. P. 1927-1935.
- 11 Dy P., Penzo-Mendez A., Wang H., et al. The three SoxC proteins—Sox4, Sox11 and Sox12—exhibit overlapping expression patterns and molecular properties. *Nucleic Acids Res*. 2008. Vol. 36. P. 3101-3117.
- 12 Zheng Z., Chen T., Li X., et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med*. 2007. Vol. 356 (8). P. 800-808.
- 13 Takahashi T., Obata Y., Sekido Y., et al. Expression and amplification of Myc gene family in small cell lung cancer and its relation to biological characteristics. *Cancer research*. 1989. Vol. 49. P. 2683-2688.
- 14 Campos E.I., Chin M.Y., Kuo W.H., Li G. Biological functions of the ING family tumor suppressors. *Cell Mol Life Sci*. 2004. Vol. 61. P. 2597-2613.
- 15 Lundberg A.S., Weinberg R.A. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer*. 1999. Vol. 35. P. 1886-1894.
- 16 Hoser M., Potzner M.R., Koch J.M., et al. Sox12 deletion in the mouse reveals nonreciprocal redundancy with the related Sox4 and Sox11 transcription factors. *Mol Cell Biol*. 2008. Vol. 28. P. 4675-4687.
- 17 Mei H., Lin Z., Wang Y., et al. Autophagy inhibition enhances pan-Bcl-2 inhibitor AT-101-induced apoptosis in non-small cell lung cancer. *Neoplasma*. 2014. Vol. 61 (2). P. 186-192.
- 18 Harbour J.W., Luo R.X., Dei Santi A., et al. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1. *Cell*. 1999. Vol. 17, N. 98(6). P. 859-869.
- 19 Wu C., Zhu J., Zhang X. Network-based differential gene expression analysis suggests cell cycle related genes regulated by E2F1 underlie the molecular difference between smoker and non-smoker lung adenocarcinoma. *BMC Bioinformatics*. 2013. Vol. 17, N. 14. P. 365.
- 20 Ly Y., Purbey B.K., Huang Y., et al. Adenovirus-mediated expression of p33 (ING1b) induces apoptosis and inhibits proliferation in gastric adenocarcinoma cells in vitro. *Gastric Cancer*. 2012. Vol. 15(4). P. 355-362.
- 21 Jiang P., Du W., Yang X. p53 and regulation of tumor metabolism // *J Carcinog*. 2013. Vol. 12. P. 21.
- 22 Yanaihara N., Caplen N., Bowman E., et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006. Vol. 9. P. 189-198.
- 23 Tian S., Huang S., Wu S., et al. MicroRNA-1285 inhibits the expression of p53 by directly targeting its 3'untranslated region. *Biochem Biophys Res Com*. 2010. Vol. 396. P. 435-439.
- 24 Li Q., Li X., Guo Z., et al. MicroRNA-574-5p was pivotal for TLR9 signaling enhanced tumor progression via down-regulating checkpoint suppressor 1 in human lung cancer. *Plos One*. 2012. Vol. 7(11). e48278.
- 25 Tatematsu A., Shimizu J., Murakami Y., et al. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2008. Vol. 14. P. 6092-6096.
- 26 Sutherland K.D., Proost N., Brouns I., et al. Cell of origin of small cell lung cancer: inactivation of Trp53 and Rb1 in distinct cell types of adult mouse lung. *Cancer Cell*. 2011. Vol. 19. P. 754-764.
- 27 Hu R.A. Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation. *J Biol Chem*. 2011. Vol. 286. P. 12328-12339.
- 28 Pignot G., Cizeron-Clairac G., Vacher S., et al. microRNA expression profile in a large series of bladder tumors: identification of a 3-miRNA signature associated with aggressiveness of muscle-invasive bladder cancer. *Int J Cancer*. 2013. Vol. 132 (11). P. 2479-2491.

Резюме

Р. Е. Ниязова, О. А. Берилло, Ш. А. Атамбаева, А. Т. Иващенко

(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан)

ӨКПЕНІҢ ҰСАҚЖАСУШАЛЫҚ ОБЫРЫНЫҢ ДАМУЫНА ҚАТЫСАТЫН
ГЕНДЕРГЕ ТАЛІФАМДЫ МикроРНК-дың ҚАСИЕТТЕРІ

Адам өкпесінің ұсақжасушалық обырының дамуына жауапты гендердің mRNA-мен miRNAның байланысуы зерттелген. miRNAның 36 гендердің mRNA-мен байланысатын сайттары 5'UTR, CDS және 3'UTR-де орналасқан. Ұсақжасушалық обыры кезінде экспрессиясы өзгертін гендердің mRNA-мен уникалды miRNA-дың байланысатын сайттары анықталған. miR-1273-f, miR-1273g-3p, miR-466, miR-3960, miR-574-5p және miR-619 ұсақжасушалық обырының дамуына жауапты бірнеше гендермен байланысады, $\Delta G/\Delta G_m$ 90% жоғары, кейбіреулерінің екіден сегізге дейін сайттары анықталған. miRNAның онкогенезге қатысатын гендердің экспрессиясына әсері бойынша алынған мәліметтер ұсақжасушалық обырының ерте диагностикасын жүргізуге мүмкіндік бере алады.

Тірек сөздер: ген, miRNA, mRNA, өкпенің ұсақ жасушалық обыры.

Summary

R. Y. Niyazova, O. A. Berillo, S. A. Atambayeva, A. T. Ivashchenko

(Kazakh national technical university after K. I. Satpayev, Almaty, Kazakhstan)

PROPERTIES OF MicroRNAs SPECIFIC FOR GENES INVOLVED
IN DEVELOPMENT OF THE SMALL CELL LUNG CANCER

Binding of human miRNAs with mRNAs of genes involved in the development of small cell lung cancer was studied. The sites of miRNA and 36 genes miRNA binding, localized in 5'UTR, CDS and 3'UTR, were revealed. It was shown that the unique miRNAs have binding sites with mRNA of genes associated with small cell lung cancer. miR-1273f, miR-1273g-3p, miR-466, miR-3960, miR-574-5p, miR-619 are associated with multiple genes whose expression changes at small cell lung cancer, with value $\Delta G/\Delta G_m$ equaled to more than 90 %. Some of them have two to eight arranged binding sites. The obtained data on influence of miRNA on mRNA expression of the genes involved in tumorigenesis, promote the development of methods of early diagnostics of small cell lung cancer.

Keywords: gene, miRNA, mRNA, small cell lung cancer.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 612.2+44:612.618

З. Ж. СЕЙДАХМЕТОВА¹, Л. С. ДЗОЗ², Ж. А. УТЕШЕВА²,
Н. И. ЖАПАРКУЛОВА¹, А. К. НУРГАЛИЕВА¹, М. Т. АЙХОЖАЕВА¹

(¹Институт физиологии человека и животных МОН РК, Алматы, Казахстан
²НЦ Акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ РК, Алматы, Казахстан)

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГИПОТИРЕОЗА
НА ИММУННЫЙ СТАТУС НОВОРОЖДЕННЫХ

Аннотация. В периферической и пуповинной крови новорожденных, родившихся от матерей с физиологической беременностью и с гипотиреозом было исследовано содержание иммуноглобулинов. Нарушение иммунорегуляции при беременности приводит к формированию фето-плацентарной недостаточности, проявляющейся в развитии гестоза беременных и синдроме задержки развития плода.

При гипотиреозе в периферической крови уменьшается содержание иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG. В пуповинной крови новорожденных, родившихся от матерей с гипотиреозом количество иммуноглобулинов,

отличается от новорожденных, родившихся от здоровых матерей. Отмечено резкое снижение среди иммуноглобулинов, что указывает на угнетение как гуморального, так и локального звена иммунитета новорожденных.

Ключевые слова: гипотиреоз, беременность, периферическая и пуповинная кровь, иммуноглобулины.

Тірек сөздер: гипотиреоз, жүктілік, шеткері және кіндік қан, иммуноглобулиндер.

Keywords: hypothyroidism, pregnancy, peripheral and umbilical cord blood, immunoglobulins.

Внутриутробное развитие плода во многом определяется характером гестационного процесса и состоянием иммунной системы материнского организма. При беременности развивается реакция, определяющая особый тип иммунного ответа материнского организма. Гестоз вызывает нарушение иммунных и метаболических процессов в системе «мать-плацента-плод». При этом происходят изменения клеточного и гуморального иммунитета, накопление в организме матери продуктов перекисного окисления липидов, молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов, снижения антиоксидантной защиты и повышения индекса токсичности [1]. Иммунные механизмы играют важную роль в развитии преждевременного прерывания беременности. Было отмечено снижение клеточного иммунитета у женщин с привычной потерей беременности, что, возможно, является одной из причин данной патологии [2].

Ухудшение экологической и радиационной обстановки, изменение характера питания населения и др. влияет на резкое возрастание в последние годы заболеваний щитовидной железы в период беременности. Функция щитовидной железы имеет большое значение для обеспечения нормального роста и развития плода, дифференциации его органов и тканей, особенно центральной нервной системы, регуляции метаболических процессов, формирование адаптивных реакций. Внутриутробно только тиреотропные гормоны матери являются важнейшими регуляторами формирования головного мозга будущего ребенка. Дальнейшее созревание происходит под регуляцией тиреоидных гормонов самого плода, щитовидная железа которого начинает функционировать после 12-й недели гестации [3–6]. Было отмечено, что йододефицитное состояние оказывает нейротератогенный эффект – в виде повреждения головного мозга ребенка на наиболее критическом этапе его созревания, в I триместре, что значительно ухудшает интеллектуальные и моторные функции человека. Даже субклинические формы тиреоидной патологии у матери могут крайне неблагоприятно отразиться на состоянии плода и новорожденного [7].

Нарушение иммунорегуляции при беременности приводит к формированию фето-плацентарной недостаточности, проявляющейся в развитии гестоза беременных и синдроме задержки развития плода. Состояние иммунного гомеостаза матери, формирующегося под воздействием патологических факторов при осложненной беременности, определяет тип иммунного реагирования новорожденного в период ранней адаптации [8].

Учитывая увеличение числа гипертиреоза при беременности и важное значение иммунной системы при гестозе, было проведено исследование иммуноглобулинов в периферической и пуповинной крови новорожденных от матерей с гипотиреозом.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований явилась сыворотка крови беременных женщин контрольной группы и беременных женщин с гипотиреозом при сроке 36-39 недель в возрасте 20-35 лет. Пуповинную кровь новорожденных забирали во время родов в стерильные пробирки без антикоагулянта из той части пуповины, которая была расположена ближе к плоду от матерей с гипотиреозом и с физиологически протекающей беременностью. Содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом ИФА с наборами Вектор Бест (Россия). Достоверность различия признаков определялась по коэффициенту Стьюдента.

Результаты исследования

В наших исследованиях изучалось содержание иммуноглобулинов классов А, М, G у беременных женщин с гипотиреозом в периферической крови, а также в пуповинной крови новорожденных. Было обследовано 20 женщин фертильного возраста при сроке беременности 37-40 недель,

у которых был диагностирован гипотиреоз. В качестве контроля обследованы 20 практически здоровых женщин, с физиологическим течением беременности, срок беременности которых был аналогичен данным группы больных женщин с гипотиреозом.

Сравнение содержания иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови здоровых беременных и больных гипотиреозом женщин выявило снижение количества IgA, а также IgG в группе с гипотиреозом в 1,29 и 1,26 раз соответственно (таблица 1). В то же время содержание иммуноглобулина класса IgM, между группами беременных не выявило достоверных отличий. У беременных женщин с гипотиреозом содержание иммуноглобулина классов A и G на системном уровне было достоверно снижено по сравнению со здоровыми беременными, что указывает на угнетение гуморального звена иммунной системы у этих женщин.

Таблица 1 – Изменение содержания иммуноглобулинов в периферической крови беременных женщин при гипотиреозе

Наименование групп женщин	Периферическая кровь		
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Физиологическая беременность	1,45±0,2	1,53±0,3	10,62±1,1
Беременные с гипотиреозом	1,12±0,1*	1,38±0,2	8,40±0,1*
<i>Примечание.</i> *P<0,05 между физиологической беременностью и с гипотиреозом.			

В пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей с физиологическим течением беременности, на локальном уровне количество иммуноглобулинов классов IgA и IgM было в 3,9 и в 2,35 раз соответственно меньше, чем в периферической крови их матерей (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние гипотиреоза на содержание иммуноглобулинов в пуповинной крови новорожденных

Группы женщин	Пуповинная кровь		
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Физиологическая беременность	0,38±0,1	0,65±0,1	13,44±0,1
Беременные с гипотиреозом	0,15±0,02*	0,13±0,1*	8,74±0,1*
<i>Примечание.</i> *P<0,05 между физиологической беременностью и с гипотиреозом.			

Количество же иммуноглобулина IgG в пуповинной крови в 1,26 раза превышало содержание в периферической крови здоровых матерей. Это согласуется с положением о барьерной функции плаценты, согласно которому к плоду от матерей в норме переходят в основном иммуноглобулины класса G, защищающие плод от инфицирования.

Сравнение на локальном уровне количества иммуноглобулинов в пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей и страдающих гипотиреозом, позволило установить достоверные различия в их содержании. Так, содержание иммуноглобулинов класса A в пуповинной крови новорожденных, родившихся от матерей с гипотиреозом, в 2,53 раза было меньше, чем в пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей. Количество иммуноглобулинов класса M в пуповинной крови при гипотиреозе в 5 раз было ниже, чем в пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей.

Содержание иммуноглобулинов класса G в пуповинной крови новорожденных от матерей страдающих гипотиреозом, в 1,54 раза было меньше аналогичных данных, полученных в пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей.

Количество иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в пуповинной крови новорожденных, родившихся от матерей с гипотиреозом, отличалось от их содержания в пуповинной крови новорожденных, родившихся от здоровых матерей, и было сниженным как среди IgA, IgM, так и среди иммуноглобулинов класса G, что указывает на угнетение гуморального звена иммунитета новорожденных, родившихся от матерей с гипотиреозом.

Известно, что пуповинная кровь не может отождествляться с кровью новорожденного даже в первые часы жизни, Основные отличия пуповинной крови от крови взрослого – большее содержание лейкоцитов, наличие нормобластов и большая осмотическая резистентность эритроцитов, высокая концентрация мобилизационных цитокинов. В отличие от периферической крови, пуповинная кровь содержит большее количество CD₃₄₊ клеток лимфоцитов [9].

По современным представлениям, наиболее распространенные осложнения беременности, такие как фетоплацентарная недостаточность, гестоз, урогенитальная инфекция характеризуются собственным «иммунологическим профилем». Именно иммунная система обеспечивает поддержание гомеостаза организма плода и новорожденного ребенка в условиях стресса и высокой антигенной нагрузки в родах и в раннем постнатальном периоде. При этом считается, что недостаточность тех или иных звеньев иммунитета плода играет ведущую роль в чувствительности к внутриутробному инфицированию [10]. Иммунологические отношения матери и плода являются двунаправленной связью, определяющиеся, с одной стороны, плацентарным антигеном, а с другой стороны, реакцией на эти антигены материнской иммунной системы. Кроме того, в период внутриутробного развития плода, иммунная система матери также претерпевает ряд изменений. Иммунологические изменения при гестации имеют важное значение для сохранения беременности, и недостаточная толерантность к антигенам плода может привести к прерыванию беременности.

В наших исследованиях патология щитовидной железы приводит к разбалансировке показателей гуморального звена иммунной системы в периферической крови и на локальном уровне, в частности к снижению содержания иммуноглобулинов всех 3-х классов (A, M, G) в пуповинной крови новорожденных, что может привести к нарушению процессов неонатальной адаптации и психофизического развития новорожденных.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют об угнетении гуморального и клеточного звена иммунитета новорожденных и их матерей. Это указывает на нарастание при гипотиреозе аутоиммунных нарушений, что говорит о риске развития патологий плода.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Шубина О.С. Влияние эндогенной интоксикации на строение плаценты // *Фундаментальные исследования*. – 2004. – № 4. – С. 21-23.
- 2 Улейская Г.И., Пономаренко М.В. Сравнительная оценка иммунного статуса у пациенток с невынашиванием беременности и бесплодием // *Иммунология репродукции*. – 2007. – Т. 9, № 2-3. – С. 256.
- 3 Фадеев В., Перминова С., Назаренко Т. и др. Патология щитовидной железы и беременность // *Врач*. – 2008. – № 5. – С.11-16.
- 4 Мурашко Л.Е. и др. Щитовидная железа и беременность // *Проблемы беременности*. – 2000. – № 1. – С. 4-10.
- 5 Фадеев В.В., Мельниченко Г.А. Гипотиреоз: Руководство для врачей / В.В. Фадеев, Г.А. Мельниченко. – М.: Медицина, 2004. – 450 с.
- 6 Fadeyev V., Lesnikova S., Melnichenko G. Prevalence of thyroid disorders in pregnant women with mild iodine deficiency // *Gynecol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 17. – P. 413-418.
- 7 Chen Y.T., Khoo D.H. Thyroid diseases in pregnancy // *Annals of the Academy of Medicine*. – 2002. – Vol. 31, N 3. – P. 296-302.
- 8 Чистякова Г.Н., Газиева И.А., Ремизова И.И. Формирование иммунологического профиля новорожденных в зависимости от патологии беременности // *Иммунология репродукции*. – 2007. – Т. 9, № 2-3. – С. 255-6.
- 9 Solves P., Perales A., Moraga R., Saucedo E., Soler M.A., Monleon J. Maternal, neonatal and collection factors influencing the haematopoietic content of cord blood units // *Acta Haematol.* – 2005. – 113(4). – P. 241-6.
- 10 Макогон А.В., Леплина О.Ю., Пасман Н.М., Черных Е.Р., Останин А.А. Онтогенетические особенности иммунитета плода во втором триместре беременности // *Бюллетень СО РАМН*. – 2005. – № 2(116). – С. 42-46.

REFERENCES

- 1 Choubina O.S. Influence of endogenous intoxication on a placenta structure. Basic researches. 2004. № 4. P. 21-23. (in Russ).
- 2 Uleyskaya G.I., Ponomarenko M.V. Comparative assessment of the immune status at patients with not incubation of pregnancy and infertility. *Reproduction Immunology*. 2007. T. 9, N 2-3. P. 256. (in Russ).
- 3 Fadeyev V., Perminova S., Nazarenko T. etc. Pathology of a thyroid gland and pregnancy. *Doctor*. 2008. N 5. P11-16. (in Russ).
- 4 Murashko L.E. etc. Thyroid gland and pregnancy, pregnancy Problems. 2000. N 1. P. 4-10. (in Russ).
- 5 Fadeyev V.V., Melnichenko G.A. Gipotireoz: The management for doctors. Century V. Fadeyev, G.A. Melnichenko. M.: Medicine, 2004. 450 p. (in Russ).

6 Fadeyev V., Lesnikova S., Melnichenko G. Prevalence of thyroid disorders in pregnant women with mild iodine deficiency. *Gynecol. Endocrinol.* 2003. Vol. 17. P. 413-418.

7 Chen Y.T., Khoo D.H. Thyroid diseases in pregnancy. *Annals of the Academy of Medicine.* 2002. Vol. 31, N 3. P. 296-302.

8 Chistyakova G.N., Gaziyeu I.A., Remizova I.I. Formation of an immunological profile of newborns depending on pregnancy pathology. *Reproduction Immunology.* 2007. T. 9, N 2-3. P. 255-6. (in Russ).

9 Solves P., Perales A., Moraga R., Saucedo E., Soler M.A., Monleon J. Maternal, neonatal and collection factors influencing the haematopoietic content of cord blood units. *Acta Haematol.* 2005. 113(4). P. 241-6.

10 Makogon A.V., Leplina O.Yu., Pasman N.M., Chernykh E.R., Ostanin A.A. Ontogeneticheskiye of feature of immunity of a fruit in the second trimester of pregnancy. *The Bulletin FROM the Russian Academy of Medical Science.* 2005. N 2(116). P 42-46. (in Russ).

Резюме

*З. Ж. Сейдахметова¹, Л. С. Дзоз², Ж. А. Өтешева²,
Н. И. Жапарқұлова¹, А. К. Нұрғалиева¹, М. Т. Айхожаева¹*

(¹ҚР БҒМ ҒК Адам және жануарлар физиологиясы институты, Алматы, Қазақстан,
²ДМ РК Акушерлік, гинекология және перинатология ҒЗО, Алматы, Қазақстан)

ГИПОТИРЕОЗ КЕЗІНДЕ ТУЫЛҒАН ЖАС НӨРЕСТЕЛЕРДІҢ ИММУНДЫҚ ЖҮЙЕСІН БАҒАЛАУ

Мақалада физиологиялық жүктілік кезеңінде гипотериозға шалдыққан аналардан жаңа туылған нәрестелердің шеткері және кіндік қанындағы иммуноглобулиннің мөлшері зерттелді. Жүктілік кезінде иммундық реттелудің бұзылу салдарынан фето-плацентарлық жетіспеушілік туындап, ол гестоздың дамуы мен құрсақшілік бала өсуінің кідіруі синдромына алып келеді.

Қалыпты және жүктілік кезеңінде гипотиреозға шалдыққан аналардан туған нәрестелердің шеткері және кіндік қанындағы иммуноглобулиндердің мөлшерінде айырмашылық бар екені байқалды. Гипотериоз кезінде шеткері қанында IgA, IgM, IgG иммуноглобулиндердің мөлшері төмендеді. Осыған байланысты жас нәрестелердің иммунитет жүйесіне гуморальды және шоғырлана әсер етіп, иммуноглобулин мөлшері төмендеуіне алып келді.

Тірек сөздер: гипотиреоз, жүктілік, шеткері және кіндік қан, иммуноглобулиндер.

Summary

*Z. Zh. Seidakhmetova¹, L. S. Dzo², Zh. A. Utesheva²,
N. I. Zhaparkulova¹, A. K. Nurgalieva¹, M. T. Aihozhaeva¹*

(¹Institute of Human and animal physiology of SC of MES RK, Almaty, Kazakhstan,
²Scientific center for obstetrics, gynecology and perinatology of MPH of RK, Almaty, Kazakhstan)

ASSESSMENT OF INFLUENCE OF THE HYPOTHYROIDISM ON THE IMMUNE STATUS OF NEWBORNS

In a peripheral and umbilical blood of the newborns who were born from mothers with physiological pregnancy and with a hypothyroidism, the content of immunoglobulins was investigated. Immunoregulation violation at pregnancy leads to formation of the feto-placental insufficiency which is shown in gestosis development of pregnant women and a syndrome of retention of development of a fetus.

At a hypothyroidism in peripheral blood the content of IgA, IgM, IgG immunoglobulins decreases. In an umbilical blood of the newborns who were born from mothers with a hypothyroidism, amount of immunoglobulins. Differs from the newborns who were born from healthy mothers. Sharp decrease among immunoglobulins is noted it points to oppression both humoral, and a local link of immunity of newborns.

Keywords: hypothyroidism, pregnancy, peripheral and umbilical cord blood, immunoglobulins.

Поступила 10.0.2014 г.

А. Ш. УТАРБАЕВА, О. В. ЧЕБОНЕНКО, А. К. ТУРСУНОВА,
А. Ж. АМИРКУЛОВА, А. О. АБАЙЛДАЕВ, Н. П. МАЛАХОВА, А. ХАСЕЙН

(РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан. E-mail: a.utar@mail.ru)

ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *IN VITRO* КЛЕТОК КАРТОФЕЛЯ ПРИ СЕЛЕКЦИИ НА СОЛЕ- И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аннотация. Проведен сравнительный анализ уровня прооксидантов (содержание перекиси водорода (H_2O_2) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантных ферментов (АОФ): супероксиддисмутазы (СОД), аскорбатпероксидазы (АПО), каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПО) в суспензионных клетках картофеля сорта Аксор при селекции на соле- (0,1М NaCl) и засухоустойчивость (0,15М маннитол). На начальном этапе селекции в клетках уровень прооксидантов был выше в 1,5-2 раза, чем в контроле на средах с маннитолом. Засоление вызывало незначительное на 30-40% усиление ПОЛ. Наблюдали активацию КАТ и СОД при засолении и ингибирование – при осмотическом стрессе. Активность АПО и ПО усиливалась на средах с маннитолом и снижалась на средах с NaCl. СОД и КАТ активировались на (50-60% больше контроля) на конечном этапе селекции в засухоустойчивых клетках. Наибольший отклик наблюдали для связанной формы ПО, активность которой в 2-3 раза превышала контроль. Содержание H_2O_2 и ПОЛ практически не превышало контрольного уровня, что свидетельствует об эффективной работе антиоксидантной системы защиты устойчивых к данным стрессам клеток. Таким образом, суспензионные клетки картофеля сорта Аксор показали достаточно высокий потенциал для селекции на соле- и засухоустойчивость. Активация СОД, КАТ и связанных с клеточной стенкой форм ПО участвует в утилизации активных форм кислорода (АФК), снимает негативное влияние окислительного стресса и прямо коррелирует с соле- и засухоустойчивостью суспензионных клеток картофеля.

Ключевые слова: картофель, суспензионные клетки, антиоксидантные ферменты, прооксиданты, селекция, солеустойчивость, засухоустойчивость.

Тірек сөздер: картоп, суспензионды жасушалар, антиоксидантты ферменттер, прооксиданттар, іріктеу, тұзға төзімділік, құрғақшылыққа төзімділік.

Keywords: potato, suspension cells, selection, antioxidant enzymes, prooxidants, salinity resistance, drought resistance.

В настоящее время установлено, что одним из общих стрессорных ответов растений на действие повреждающих абиотических факторов различной природы, включая засоление и засуху, является усиление генерации активных форм кислорода (АФК) и развитие окислительного стресса.

Важную роль в защите клеток и тканей от чрезмерных окислительных повреждений и поддержания нормального редокс-баланса играют системы естественной детоксикации, в том числе специализированные ферментные антиоксиданты: СОД, КАТ, группа ПО, ферменты аскорбат-глутатионового цикла: АПО, дегидроаскорбат-редуктаза (ДАР), глутатион-редуктаза (ГР) [1, 2]. В научной литературе имеется много фактических данных об участии ферментов-антиоксидантов, экспрессии их генов в обезвреживании различных АФК, образующихся при абиотических стрессах. Большинство исследований показывает прямую корреляцию устойчивости к данным стрессовым факторам с усилением активности ферментов – антиоксидантов, и как следствие уменьшением проявлений окислительного стресса [3, 4]. Однако не всегда основные антиоксидантные ферменты реагируют на стрессы, вызванные засолением и засухой увеличением активности. Имеются данные, что при действии высоких концентраций NaCl и в солеустойчивых и чувствительных *in vitro* линиях картофеля наблюдалось снижение активности СОД, АПО, ГР, а активность КАТ не менялась [5].

Литературные данные показывают, что про- и антиоксидантные системы могут выступать маркерами устойчивости или чувствительности растений к абиотическим стрессам, включая засоление и засуху. Удобной моделью для исследования биохимических аспектов участия про- и антиоксидантов в механизмах устойчивости и селекции на соле- и засухоустойчивость могут служить культивируемые *in vitro* клетки и растения-регенеранты.

В связи с этим были исследованы изменения прооксидантного статуса (генерация H_2O_2 и ПОЛ) и активности ключевых АОФ при селекции суспензионных клеток картофеля сорта Аксор на соли- и засухоустойчивость.

Материалы и методы

Объектом исследований служили суспензионные клетки картофеля сорта Аксор. Для проведения клеточной селекции на засухо- и солеустойчивость в суспензионной культуре картофеля использовали селективные агенты маннитол в концентрации 0,15М, и NaCl в концентрации 0,1М, которые добавляли в жидкую питательную среду. Клеточную селекцию проводили способом прямой селекции, при которой выживает лишь определенный искомый мутантный тип клеток. Селекцию осуществляли по классической ступенчатой схеме: культивирование клеток в неселективных условиях (14 суток); культивирование клеток в селективных условиях (2 субкультивирования с периодом 7 суток); перенос клеток в неселективные условия (14 суток); перенос клеток в селективные условия (2 субкультивирования по 7 суток).

Содержание H_2O_2 определяли с использованием ксиленолового оранжевого согласно Gay [6].

Интенсивность ПОЛ анализировали по накоплению в клетках малонового диальдегида (МДА), определяемого по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [7].

Активность КАТ определяли спектрофотометрически по распаду H_2O_2 при 240 нм в Na^+ -фосфатном буфере (рН 6,5). Реакционная смесь содержала 2мл 0,1М Na^+ -фосфатного буфера (рН 6,5), 100 мкл H_2O_2 (финальная концентрация 12,5 мМ), 50 мкл растительного экстракта. Коэффициент экстинкции H_2O_2 при 240 нм $0,040 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [8].

Активность АПО определяли спектрофотометрически по разложению аскорбиновой кислоты при 290 нм в Трис-НСI буфере (рН 7,8). Реакционная смесь содержала 2 мл 0,2 М Трис-НСI буфере (рН 7,8), 100 мкл 5,6 мМ аскорбиновой кислоты, 100 мкл 11,25 мМ H_2O_2 , 100 мкл растительного экстракта. Коэффициент экстинкции аскорбиновой кислоты при 290 нм $2,8 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [9].

Суммарную активность СОД определяли в реакции конкурентного восстановления тетразолия нитросинего [10] с модификациями.

Активность ПО отмечали по начальной скорости окисления о-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм. Скорость реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени [11].

Количество белка измеряли по микробиуретовому методу [12].

Опыты проводились в 3-4-х кратной повторности. Все результаты были подвергнуты стандартной статистической обработке.

Результаты и их обсуждение

Анализ прооксидантов показал, что в суспензионных клетках на начальных этапах селекции на засухоустойчивость (через 2 недели культивирования на 0,15М маннитол) уровень H_2O_2 был в 2 раза выше в селективных клетках по сравнению с контролем. На конечном этапе селекции суспензионных культур (через 4 недели) уровень H_2O_2 в засухоустойчивых вариантах лишь незначительно (на 10-15%) был выше контроля. Уровень ПОЛ изменялся аналогично содержанию H_2O_2 . Также на первых этапах селекции в селективных линиях содержание ПОЛ в 1,7-2 раза было выше, чем в контроле. К концу селекционного процесса в устойчивых клетках незначительно (на 20-30%) содержание МДА было выше по сравнению с контрольными образцами (таблица 1). При селекции на солеустойчивость, генерация H_2O_2 возрастала на протяжении этапов селекции. К концу опыта в устойчивых линиях, содержание АФК в 3 раза превышало контроль. Содержание ПОЛ как и в случае с засухоустойчивыми клетками было на уровне контроля на конечном этапе селекции (таблица 1).

Анализ активности АОФ показал, что ответная реакция цитоплазматических форм АОФ различается в процессе селекции. СОД, КАТ и связанные с клеточной стенкой ПО в начале селекции в опытных вариантах ингибируются, АПО и растворимые ПО активируются в 2 раза больше контроля. В конце селекции АОФ у устойчивых клеток уровень всех ферментов был выше контрольных. Наиболее выраженное увеличение активности наблюдали для связанных ПО (в 2 раза больше контроля) (таблица 2). Солеустойчивые клетки на начальном этапе селекции характеризовались повышенной активностью СО и КАТ (в 2 раза больше контроля), АПО и ПО ингибировались. На

Таблица 1 – Содержание прооксидантов в суспензионных клетках картофеля при селекции на соле- и засухоустойчивость

Этапы селекции	Содержание H ₂ O ₂ , мкМ/г сырого веса		Содержание МДА, мкМ/г сырого веса	
	контроль	опыт	контроль	опыт
0,15М маннитол				
Через 2 недели	5,3 ± 0,2	10,2 ± 0,3	0,65 ± 0,02	1,3 ± 0,02
Через 4 недели	9,3 ± 0,2	13,4 ± 0,3	1,0 ± 0,02	1,2 ± 0,02
0,1М NaCl				
Через 2 недели	9,3 ± 0,2	17,2 ± 0,3	1,2 ± 0,02	1,6 ± 0,02
Через 4 недели	7,0 ± 0,15	20,0 ± 0,4	2,0 ± 0,02	2,2 ± 0,02

Таблица 2 – Активность цитоплазматических форм АОФ суспензионных клеток картофеля при селекции на соле- и засухоустойчивость

Варианты	Активность АОФ				
	СОД, ед.акт./мг белка	КАТ, мкМ H ₂ O ₂ / (мг белка мин)	АПО, мкМ аскорбата / (мг белка мин)	ПО растворимые, (отн.ед./мг белка мин)	ПО связанные, (отн.ед./мг белка мин)
0,15М маннитол					
Контроль 2 недели	22,7 ± 3	15,8 ± 3	0,30 ± 0,01	26,6 ± 3,1	54,3 ± 4,2
Опыт 2 недели	13,3 ± 2	0,8 ± 0,2	0,60 ± 0,01	73,7 ± 4,6	28,3 ± 1,9
Контроль 4 недели	16,0 ± 2	2,6 ± 0,2	1,8 ± 0,1	70,0 ± 4,0	42,4 ± 3,0
Опыт 4 недели	24,4 ± 3	3,6 ± 0,2	2,4 ± 0,1	81,2 ± 4,7	87,0 ± 4,6
0,1М NaCl					
Контроль 2 недели	12,5 ± 2	11,6 ± 1,5	1,8 ± 0,01	56 ± 3,1	65,1 ± 4,2
Опыт 2 недели	22,6 ± 3	22,3 ± 3	0,7 ± 0,01	43,7 ± 2,6	32,5 ± 1,9
Контроль 4 недели	3,3 ± 0,3	2,8 ± 0,2	0,9 ± 0,01	22,6 ± 2,1	47 ± 2,8
Опыт 4 недели	3,6 ± 0,3	17,5 ± 2,5	1,2 ± 0,01	14,7 ± 1,6	38 ± 1,6

конечной стадии селекционного процесса наблюдали значительное активирование КАТ в 5 раз превышающее уровень контроля. Эти данные подтверждают предположение, что в солеустойчивых клетках активируется КАТ, один из основных ферментов утилизирующих H₂O₂ и защищающих от негативных последствий окислительного стресса (таблица 2). Активность секретируемых форм АОФ оставались ниже контрольного уровня на всех этапах селекции на засухоустойчивость. Такое реагирование свидетельствует, что внутриклеточные и локализованные в клеточной стенке АОФ засухоустойчивых линий утилизируют избыточные количества АФК и поддерживают редокс-баланс на нормальном для клетки уровне. Солевой стресс вызывал секрецию некоторых АОФ в среду культивирования. Особенно активно секретировались КАТ и ПО, превышая контрольный уровень к концу селекции в 5 и 3 раза соответственно (таблица 3).

Таблица 3 – Активность секретируемых форм АОФ суспензионных клеток картофеля при селекции на соле- и засухоустойчивость

Варианты	Активность АОФ			
	СОД, ед.акт./мг белка	КАТ, мкМ H ₂ O ₂ / (мг белка мин)	АсПО, мкМ аскорбата / (мг белка мин)	ПО, (отн.ед./мг белка мин)
0,15М маннитол				
Контроль 2 недели	5,2 ± 0,5	0,56 ± 0,05	0,15 ± 0,01	50,6 ± 4,1
Опыт 2 недели	4,7 ± 0,5	0,08 ± 0,002	0,20 ± 0,01	32,7 ± 2,6
Контроль 4 недели	4,3 ± 0,5	0,22 ± 0,02	0,3 ± 0,01	12,8 ± 1,4
Опыт 4 недели	2,5 ± 0,3	0,3 ± 0,02	0,2 ± 0,01	10,3 ± 1,2
0,1М NaCl				
Контроль 2 недели	4,3 ± 0,5	0,2 ± 0,02	0,4 ± 0,02	41 ± 3,8
Опыт 2 недели	2,1 ± 0,1	0,5 ± 0,03	0,4 ± 0,02	83 ± 5,1
Контроль 4 недели	3,2 ± 0,1	0,1 ± 0,002	0,1 ± 0,002	12 ± 2,1
Опыт 4 недели	2,8 ± 0,1	0,6 ± 0,03	0,4 ± 0,02	37 ± 3,1

Таким образом, суспензионные клетки картофеля сорта Аксор показали достаточно высокий потенциал для селекции на соле- и засухоустойчивость. Активное участие в формировании устойчивости *in vitro* культуры к данным абиотическим стрессовым факторам принимает антиоксидантная система. Активация СОД, КАТ и связанных с клеточной стенкой форм ПО участвует в утилизации АФК, снимает негативное влияние окислительного стресса и прямо коррелирует с соле- и засухоустойчивостью суспензионных клеток картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Science*. – 2002. – Vol. 7(9). – P. 405-410.
- 2 Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review // *Annals of Botany*. – 2003. – Vol. 91. – P. 179-194.
- 3 Aghaei K., Ehsanpour A.A., Komatsu S. Potato responds to salt stress by increased activity of antioxidant enzymes // *J. Integr. Plant Biol.* – 2009. – Vol. 51(12). – P. 1095-1103.
- 4 Rahnema H., Ebrahimzadeh H. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings // *Biol. Plant.* – 2005. – Vol. 49. – P. 93-97.
- 5 Queirós F., Rodrigues J.A., Almeida J.M., Almeida Domingos P.F., Fidalgo F. Differential responses of the antioxidant defence system and ultrastructure in a salt-adapted potato cell line // *Plant Physiol Biochem.* – 2011. – Vol. 49(12). – P. 1410-1419.
- 6 Gay C., Collins J., Gebicki J. M. Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex // *Analytical Biochemistry*. – 1999. – Vol. 273. – P. 149-155.
- 7 Жиров В.К., Мерзляк М.Н., Кузнецов Л.В. Перекисное окисление мембранных липидов холодостойких растений при повреждении отрицательными температурами // *Физиология растений*. – 1982. – Т. 29. – С. 1045-1052.
- 8 Aebi H. Catalase *in vitro* // *Methods Enzymology*. – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.
- 9 Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts // *Plant Cell Physiol.* – 1981. – Vol. 22. – P. 867-880.
- 10 Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // *Anal. Biochem.* – 1971. – Vol. 44. – P. 276-287.
- 11 Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина H₂O₂ в присутствии пероксидазы хрена // *Биохимия*. – 1977. – Т. 42. – С. 1372-1379.
- 12 Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. – М., 1971. – С. 309-310.

REFERENCES

- 1 Mittler R. *Trends in Plant Science*, **2002**, 7 (9), 405-410
- 2 Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. *Annals of Botany*, **2003**, 91, 179-194.
- 3 Aghaei K., Ehsanpour A.A., Komatsu S. *J. Integr. Plant Biol.*, **2009**, 51(12), 1095-1103.
- 4 Rahnema H. and Ebrahimzadeh H. *Biol. Plant*, **2005**, 49, P. 93-97.
- 5 Queirós F., Rodrigues J.A., Almeida J. M., Almeida Domingos P.F., Fidalgo F. *Plant Physiol Biochem.*, **2011**, 49 (12), 1410-1419.
- 6 Gay C., Collins J. and Gebicki J. M. *Analytical Biochemistry*, **1999**, 273, P. 149-155.
- 7 Zhiron V.K., Merzljak M.N., Kuznecov L.V. *Fiziologija rastenij*, **1982**, 29, 1045-1052 (in Russ.).
- 8 Aebi H. *Methods Enzymology*, **1984**, 105, 121-126.
- 9 Nakano Y., Asada K. *Plant Cell Physiol*, **1981**, 22, 867-880.
- 10 Beauchamp C., Fridovich J. *Anal. Biochem.*, **1971**, 44, 276-287.
- 11 Lebedeva O.V., Ugarova N.N., Berezin I.V. *Biohimija*, **1977**, 42, 1372-1379 (in Russ.).
- 12 Kochetov G.A. *M.*, **1971**, 309-310 (in Russ.).

Резюме

А. Ш. Отарбаева, О. В. Чебоненко, А. К. Тұрсынова, А. Ж. Әмірқұлова,
А. О. Абайлдаев, Н. П. Малахова, А. Хасейн

(ҚР БҒМ ҒК «М. Ә. Айтқожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты»,
Алматы, Қазақстан)

ТҰЗ- ЖӘНЕ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІ *IN VITRO* ДАҚЫЛДАНҒАН КАРТОП ЖАСУШАЛАРЫНЫҢ ПРО- ЖӘНЕ АНТИОКСИДАНТТЫ СТАТУСЫ

Прооксиданттар (сутегі асқын тотығы (H₂O₂) және липидтердің сутек асқын тотығуы (ПОЛ) деңгейі мен антиоксиданттық ферменттердің, яғни супероксиддисмутаза (СОД), аскорбатпероксидаза (АПО), каталаза (КАТ) және пероксидаза (ПО) белсенділігін тұзға (0,1M NaCl) және құрғақшылыққа төзімді (0,15M маннитол) іріктеуде картоптың Аксор сортының суспензия жасушаларында салыстырмалы талдау жасалынды.

Маннитол ортасындағы іріктеудің басты сатысында жасушаларда прооксидант деңгейі бақылаумен салыстырғанда 1,5-2 есе жоғары болды. Тұздың әсері липидтердің сутектік асқын тотығуын 30-40%-ға көбейтті. КАТ және СОД-тың белсендігін тұзда, ал осмотикалық стресте тежелгені байқады. Ал, АПО мен ПО белсенділігі маннитолы бар ортада күшейіп, NaCl ортада азайған. Іріктеудің соңғы сатысында құрғақшылыққа төзімді жасушалардың СОД пен КАТ белсенділігі (50-60% бақылаумен салыстырғанда) артты. Ең үлкен белсенділік ПО-ның байланысқан формасы, бақылаумен салыстырғанда 2-3 есе жоғары болды. H₂O₂ мен липидтердің сутек асқын тотығу мөлшері бақылау деңгейінен асқан жоқ, бұл жасушалардың осы стрестерге төзімді антиоксиданттық жүйесінің қорғаныс жұмысы. Осыдан, картоптың Аксор сортының суспензионды жасушалары тұз және құрғақшылыққа төзімді селекциясында жоғары әлеует көрсетті. СОД, КАТ және ПО-ның жасуша қабығымен байланысқан формасының белсенділігі картоптың суспензионды жасушаларының тұз және құрғақшылыққа төзімділігіне тура қатысты болып, оттегінің белсенді формаларын пайдаға асырады және тотықтандырғыш стрестің кері әсерін бәсеңдетеді.

Тірек сөздер: картоп, суспензионды жасушалар, антиоксидантты ферменттер, прооксиданттар, іріктеу, тұзға төзімділік, құрғақшылыққа төзімділік.

Summary

*A. Sh. Utarbayeva, O. V. Chebonenko, A. K. Tursunova,
A. Zh. Amirkulova, A. O. Abayldaev, N. P. Malakhova, A. Khassein*

(M. A. Aitkhozhin institute of molecular biology and biochemistry CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

PRO- AND ANTIOXIDANT STATUS OF *IN VITRO* CULTIVATED POTATO CELLS UNDER SELECTION WITH SALINITY AND DROUGHT TOLERANCE

There was a comparative analysis of level of prooxidants (containing of hydrogen peroxide (H₂O₂) and lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes (AOE): superoxidismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and peroxidase (POD) in suspension cells of potato line Aksor under selective conditions – salinity (0,1M NaCl) and drought resistance (0,15M mannitol). At the first stage of selection level of prooxidants in cells was in 1,5-2 times higher than in control after cultivation in medium with mannitol. The salinity increased activity of LPO in 30-40%. Activity of CAT and SOD increased under salinity and decreased under osmotic stress. Activity of APX and POD increased on a medium contains mannitol and decreased on a medium with NaCl. SOD and CAT activated in the drought resistant cells at the last stage of selection. The most responsive was cell wall bounded POD with form – its activity in a 2-3 times higher than control. Content of H₂O₂ and lipid peroxidation wasn't higher than control level which means that antioxidant system works effectively in the stress tolerant cells. Therefore suspended potato cells of Aksor line demonstrated the high potential for further selection with salinity and drought tolerance. Activation of SOD, CAT and cell wall bounded POD with forms involves in utilization of reactive oxygen species (ROS), neutralize the negative effect of oxidative stress and correlates with resistance to salinity and drought of potato cells suspension.

Keywords: potato, suspension cells, selection, antioxidant enzymes, prooxidants, salinity resistance, drought resistance.

Поступила 10.0.2014 г.

А. А. ХАКИМЖАНОВ, В. А. КУЗОВЛЕВ, Н. С. МАМЫТОВА, О. В. ФУРСОВ

(РГП «Институт молекулярной биологии и биологии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан. E-mail: a.khakimzhanov@mail.ru)

ОЧИСТКА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ИНГИБИТОРА ЭНДОГЕННОЙ α -АМИЛАЗЫ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ

Аннотация. Из зерна пшеницы очищен белковый ингибитор эндогенной α -амилазы. Ингибитор строго инактивировал α -амилазу прорастания (группа Ами1) и практически не действовал на изоферменты α -Ами2. Молекулярный вес белка соответствовал 21 кД, а изоэлектрическая точка – 7,0. Белок обладал относительно высокой термостабильностью и оптимумом действия при pH 7,8-8,0.

Ключевые слова: пшеница, α -амилаза, изоферменты, белковый ингибитор.

Тірек сөздер: бидай, α -амилаза, изоферменттер, ақуыздық ингибитор.

Keywords: wheat, α -amylase, isoenzymes, proteinaceous inhibitor.

Зерновки злаковых содержат разнообразные ингибиторы амилаз белковой природы. Большинство из них активны в отношении экзогенных α -амилаз (бактерий, насекомых и млекопитающих). Белковые ингибиторы против собственных (эндогенных) α -амилаз малочисленны и исследованы сравнительно меньше. Первую группу ингибиторов принято относить к компонентам защитной системы растений. Физиологическая роль ингибиторов второй группы, по-видимому, заключается в регулировании активности эндогенного фермента в периоды созревания и прорастания зерна [1–3].

Среди ингибиторов зерновых α -амилаз наиболее известен бифункциональный α -амилаза/субтилизинингибитор, впервые открытый в зерне ячменя (BASI) [4, 5]. Ингибитор способен подавлять активность как α -амилазы II ячменя, так и сериновой протеазы микроорганизмов. В дальнейшем подобные BASI ингибиторы были обнаружены в семенах некоторых других злаковых [6]. В настоящее время интенсивно изучаются функционирование и регуляция этих белков.

α -Амилаза зерна злаковых весьма полиморфна и представлена двумя основными группами: α -Ами1с рI в районе 5,8 и α -Ами2с рI около 4,5. Изоферменты двух групп отличаются по степени аффинности к катионам кальция, чувствительности к pH и повышенной температуре [7, 8]. В гидролизе крахмала принципиальную важность имеет α -амилаза прорастания (Ами1), выполняющая роль ферментов первичной атаки гранул. Повышенная активность α -амилазы, вследствие повреждения зерна предуборочным прорастанием, значительно снижает качество муки и хлеба [9]. В связи с этим, исследование ингибиторов как естественных регуляторов зерновой α -амилазы представляется весьма важным.

В нашей работе из зерна пшеницы получен высокоочищенный препарат белкового ингибитора эндогенной α -амилазы и изучен ряд его физико-химических свойств.

Материалы и методы

Ингибитор α -амилазы из зерна пшеницы очищали методом, описанным для выделения ячменного ингибитора [5] с некоторой модификацией. Схема очистки ингибитора включала 3 основные стадии: осаждение растворимых белков зернового экстракта сульфатом аммония, ионообменную хроматографию на DEAE-Sephacryl (Pharmacia), гель-фильтрацию на Toyapearl HW-50 (Toya-Soda) с последующим концентрированием на ячейке Amicon (фильтр UM-10).

Ингибиторную активность определяли по изменению уровня активности α -амилазы в присутствии и отсутствии ингибитора и выражали следующим образом: 1 единица активности = 0,01 разницы между экстинкцией контроля (амилазная активность без ингибитора) и опыта (амилазная активность с ингибитором) на 1 мл/ч [4].

Очистку α -амилазы из проросшего зерна пшеницы и ее разделение на группы изоферментов α -Ами1 и α -Ами2 проводили с помощью методов, приведенным в работе [7].

ДС-электрофорез белков в ходе очистки ингибитора осуществляли в пластинах 10% ПАГ в системе Лэммли. Изоэлектрофокусирование (ИЭФ) ингибитора проводили в пластине 5% ПАГ в диапазоне амфолитов pH 3-10 (Sigma) при напряжении 600 V.

Результаты и обсуждение

Для выделения и изучения свойств ингибитора из зерна пшеницы была использована 3-х стадийная очистка, включавшая осаждение белка зернового экстракта сульфатом аммония (30-70%), ионообменную и гель-хроматографию. На рисунках 1 и 2 представлены ДС-электрофорези ИЭФ ингибитора пшеницы в ходе его очистки. Молекулярный вес белка соответствовал 21 кД, а изоэлектрическая точка – 7,0.

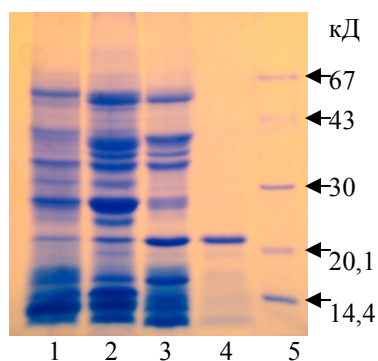


Рисунок 1 – ДС-электрофорез ингибитора α -амилазы зерна пшеницы в ходе его очистки:
1 – белок экстракта зерна; 2 – после осаждения сульфатом аммония; 3 – после ионообменной хроматографии;
4 – после гель-хроматографии (очищенный ингибитор); 5 – белки-маркеры м.в.

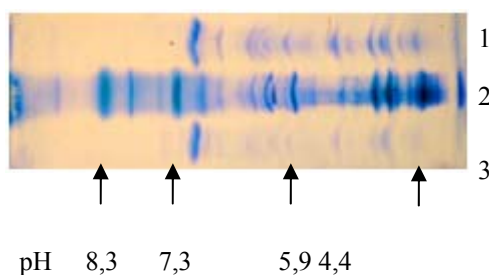


Рисунок 2 – ИЭФ ингибитора из целого зерна и отрубей пшеницы:
1 – ингибитор, очищенный из зерна; 2 – отрубей; 3 – белки-маркеры рI.

Исследовано действие ингибитора на две группы изоформ пшеничной α -амилазы Ами1 и Ами2 (рисунок 3). Оказалось, что ингибитор был высоко специфичен и способен к подавлению активности только изоферментов с высокими рI (α -Ами1). Выделенный ингибитор не проявлял активность против ряда α -амилаз микробного и животного происхождения.

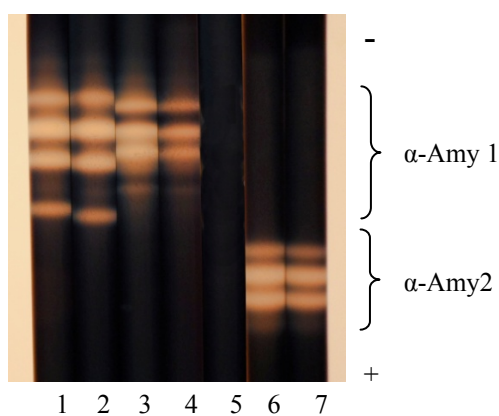


Рисунок 3 – Действие ингибитора на изоферменты пшеничной α -амилазы:
1 – 5 концентрации ингибитора 0, 10, 20, 30 и 50 мкг/мл, соответственно;
6, 7 – концентрации ингибитора 0 и 50 мкг/мл; концентрация фермента – 30 мкг/мл.
Время прединкубирования фермента с ингибитором – 30 минут

Полученные данные указывают на близкое сходство физико-химических свойств и специфичности действия на пшеничную α -амилазу выделенного нами белка с ингибитором ячменя BASI. В дальнейшем исследовалось влияние pH среды и высокой температуры на активность ингибитора и стабильность комплекса ингибитор-фермент (группа α -Ами1).

Было обнаружено, что ингибитор наиболее активен в слабощелочной среде (в области pH 7,8-8,0), при значениях pH 5,2 его активность падала практически до нуля, особенно в условиях тепловой обработки. Однако, при pH 8,0 ингибитор проявлял очень высокую термостабильность, не теряя своей активности даже при температуре 90°C в течение 10 минут (таблица 1). Этот факт следует особо отметить, поскольку ранее сообщалось об относительной термолабильности родственного белка – BASI [4]. С другой стороны, имеются данные о высокой термоустойчивости ряда других, близких по свойствам ингибиторных белков, например, ингибитора 0.19 α -амилазы зерна пшеницы, трипсिनного ингибитора Куница из папайи [11, 12].

Таблица 1 – Действие высокой температуры на активность ингибитора

Вариант	Ингибиторная активность (ед. акт./мл.час)	% подавления ингибиторной активности
Контроль	3990	0
70°C, 10 мин	3810	4,5
80°C, 10 мин	3950	1,1
90°C, 10 мин	3980	0,3

Как и сам ингибитор, его комплекс с ферментом также был достаточно устойчив и не распался полностью при температуре 65°C в течение 15 мин (таблица 2). Столь высокая стабильность данного комплекса, по-видимому, объясняется весьма близкими pH ингибитора и изоформа α -Ами1, а также наличием атома кальция в структуре фермента, повышающими взаимную аффинность обоих компонентов комплекса.

Таблица 2 – Термостабильность фермент-ингибиторного комплекса

Вариант	Амилазная активность (ед. акт./мл.час)	% распада комплекса фермент-ингибитор
Контроль	3460	0
65°C, 5 мин	3510	1,4
65°C, 10 мин	4340	20,3
65°C, 15 мин	5570	37,9

Таблица 3 – Содержание ингибитора в различных частях семени

Источник	Ингибиторная активность, (ед. акт./мг белка)
Зерно пшеницы	2680
Пшеничные отруби (фракция 1)	1980
Пшеничные отруби (фракция 2)	2330
Пшеничная мука	2700
Зерно ячменя	7010

Исследована локализация и распределение ингибиторной активности в различных частях зерновки пшеницы. Для анализа ингибиторной активности использовались целые зерна, фракция отрубей с оболочками и алейроном, фракция отрубей с зародышами, щитками, субалейроновый слой, а также мука эндосперма. Из данных таблицы 3 видно, что ингибитор присутствует повсеместно, однако его удельная активность была наиболее высока в эндосперме. Для сравнения мы также определили ингибиторную активность в зерне ячменя. Оказалось, что по содержанию ингибитора ячмень превосходит пшеницу более чем в два раза. Но, не смотря на это, зерно пшеницы также является хорошим источником ингибитора зерновой α -амилазы.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Silano V. Alpha-amylase inhibitors // In: Kruger JE, Lineback D, Stauffer CE (Eds.), Enzymes and their roles in Cereal Technology, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. – 1987. – P. 141-199.
- 2 Svenson B., Fukuda K., Nielsen P., Bonsager B. Proteinaceous α -amylase inhibitors // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – P.145-156.
- 3 Gorjanovich S. A Review: biological and technological function of barley seed pathogenesis-related proteins // J. Inst. Brew. – 2009. – Vol. 115(4). – P. 334-360.

- 4 Weselake P.J., MacGregor A.W., Hill R.D. An endogenous α -amylase inhibitor in Barley kernels // *Plant Physiol.* – 1983. – Vol. 72. – P. 809-812.
- 5 Mundy J., Svendsen I.B., Hejgaard J. Barley α -amylase/subtilisin inhibitor. I. Isolation and characterization // *Carlsberg Res. Commun.* – 1983. – Vol. 48. – P. 81-90.
- 6 Weselake P.J., MacGregor A.W., Hill R.D. Endogenous alpha-amylase inhibitor in various cereals // *Cereal Chem.* – 1985. – Vol. 62(2). – P.120-123.
- 7 Fursov O.V., Khaydarova J.S., Darkanbaev T.B. Purification, separation and some properties of α -amylase components of germinating wheat grains // *Biochem. Physiol. Pflanzen.* – 1986. – Vol. 81. – P. 177-787.
- 8 Muralikrishna M., Nirmala M. Cereal α -amylase – an overview // *Carbohydrate polymers.* – 2005. – Vol. 60. – P. 163-173.
- 9 Kruger J.E. Enzymes of sprouted grain and possible technological significance // In Bushuk W. and Rasper V. (ed.) *Wheat: Production, properties and quality.* – Glasgow, UK. 1994. – P. 143-153.
- 10 Oneda H., Lee S., Inoye K. Inhibitory effect of 0.19 alpha-amylase inhibitor from wheat kernel on the activity of porcine alpha-amylase and its thermal stability // *J. Biochem.* – 2004. – Vol. 135(3). – P. 421-427.
- 11 Azarkan M., Dibiani R., Goormaghtigh E., Raussens V., Baeyens-Volant D. The papaya Kunitz-type trypsin inhibitor is a highly stable β -sheet glycoprotein // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – P. 1063-1072.

REFERENCES

- 1 Silano V. In: Kruger JE, Lineback D, Stauffer CE (Eds.), *Enzymes and their roles in Cereal Technology*, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. 1987. 141-199.
- 2 Svenson B., Fukuda K., Nielsen P., Bonsager B. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. 145-156.
- 3 Gorjanovich S. J. *Inst. Brew.* 2009. 115(4). 334-360.
- 4 Weselake P.J., MacGregor A.W., Hill R.D. *Plant Physiol.* 1983. 72. 809-812.
- 5 Mundy J., Svendsen I.B., Hejgaard J. Barley α -amylase/subtilisin inhibitor. I. Isolation and characterization. *Carlsberg Res. Commun.* 1983. 48. 81-90.
- 6 Weselake P.J., MacGregor A.W., Hill R.D. *Cereal Chem.* 1985. 62(2). 120-123.
- 7 Fursov O.V., Khaydarova J.S., Darkanbaev T.B. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 1986. 81. 177-787.
- 8 Muralikrishna M., Nirmala M. *Carbohydrate polymers.* 2005. 60. 163-173.
- 9 Kruger J.E. In Bushuk W. and Rasper V. (ed.) *Wheat: Production, properties and quality.* Glasgow, UK. 1994. 143-153.
- 10 Azarkan M., Dibiani R., Goormaghtigh E., Raussens V., Baeyens-Volant D. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. 1063-1072.
- 11 Oneda H., Lee S., Inoye K. *J. Biochem.* 2004. 135(3).421-427.

Резюме

A. A. Хакімжанов, В. А. Кузовлев, Н. С. Мамытова, В. Фурсов

(ҚР БҒМ ҒК М. Ә. Айтқожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты, Алматы, Қазақстан)

БИДАЙ ДӘНІНДЕГІ ЭНДОГЕНДІ α -АМИЛАЗА ИНГИБИТОРЫНЫҢ КЕЙБІР ҚАСИЕТТЕРІ ЖӘНЕ ОНЫ ТАЗАЛАУ

Бидай дәнінен эндогенді α -амилазаның ақуызды ингибиторы тазартылып алынды. Ингибитор өсу (Ами1 тобы) α -амилазасын қатан түрде инактивирлеген және Ами2 изоферментіне мүлдем әсер етпеген. Ақуыздың молекулалық салмағы 21кД, ал изоэлектрлі нүктесі – 7,0 сәйкес. Ақуыз жоғары термотұрақтылыққа ие және әсер ету оптимумы рН 7,8- 8,0 тең.

Тірек сөздер: бидай, α -амилаза, изоферменттер, ақуыздық ингибитор.

Summary

A. A. Khakimzhanov, V. A. Kuzovlev, N. S. Mamytova, O. V. Fursov

(«M. A. Aitkhozhin institute of molecular biology and biochemisrtry» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

PURIFICATION AND SOME PROPERTIES OF ENDOGENOUS α -AMYLASE INHIBITOR FROM WHEAT GRAIN

The endogenous α -amylase inhibitor was purified from wheat grains. Its molecular weight and isoelectric point were about 21kD and 7,0 respectively. The inhibitor inactivated wheat high pI α -amylase isozymes, but had no effect on low pI isozymes. The protein was relatively high thermostable and most active at pH 7,8 - 8,0.

Keywords: wheat, α -amylase, isoenzymes, proteinaceous inhibitor.

Поступила 10.0.2014 г.

А. К. САДАНОВ¹, У. Р. ИДРИСОВА², Т. Б. МУСАЛДИНОВ², О. Н. АУЭЗОВА²,
С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА¹, Д. Ж. ИДРИСОВА², Н. С. АШЫКБАЕВ², Ж. М. КАБДЕНОВ²

¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,
²ТОО «Таза Су», Алматы, Казахстан. E-mail: taza-su@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦЕОЛИТА С ОРГАНИЧЕСКИМИ И МИНЕРАЛЬНЫМИ ДОБАВКАМИ НА ОЧИСТКУ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ

Аннотация. Исследования показали, что внесение цеолита, биовермикомпоста и азотных удобрений в нефтезагрязненную почву благоприятно влияет на спонтанную микрофлору: значительно увеличивается доля гетеротрофных бактерий, актиномицетов и углеводородоксилирующих микроорганизмов. Самая значительная убыль нефти отмечена в варианте с добавлением биовермикомпоста 6,0 т/га и цеолита 7,5 т /га и составила 63,3%. При этих же условиях зафиксирована максимальная каталазная и дегидрогеназная активность.

Ключевые слова: нефтезагрязненная почва, цеолит, биовермикомпост, азотные удобрения, спонтанная микрофлора.

Тірек сөздер: мұнаймен ластанған топырақ, цеолит, биовермикомпост, азот тыңайтқыштары, спонтанды микрофлора.

Keywords: oil-polluted soil, zeolite, biovermikompost, nitrogen fertilizers, spontaneous microflora.

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами ведет к серьезным нарушениям природных экосистем. Высокая адсорбирующая способность почвы приводит к тому, что нефть длительное время сохраняется в ней. При этом угнетаются естественные микробиоценозы, снижается плодородие почвы, гибнет растительный и животный мир. Отечественный и зарубежный опыт показывает, что несмотря на самые высокие требования, предъявляемые к надежности, и большие затраты на техническое обслуживание, безопасная эксплуатация нефтедобывающего и перегонного оборудования практически невозможна. В связи с этим необходимо разрабатывать максимально безопасные способы ликвидации последствий нефтехимического загрязнения в почве. Применяемые механические, физические и химические методы очистки не являются достаточно эффективными, поэтому в настоящее время большое внимание уделяется биоремедиационным способам очистки нетезагрязненных почв.

В последнее время повышенный интерес вызывает использование цеолитов в биоремедиации нефтезагрязненной почвы. Цеолитно-микробиологическая очистка почв и грунтов от загрязнений нефтью и нефтепродуктами не оказывает отрицательного воздействия на компоненты окружающей среды, так как в технологии используется экологически чистый, нетоксичный материал – цеолит [1, 2].

Целью исследования являлось изучение влияния цеолита, биовермикомпоста и азотных удобрений на спонтанную почвенную микрофлору, а также на степень очистки почвы от нефти.

Материалы и методы исследований

Объектами исследований служила почва нефтегазового месторождения Кумколь, которая классифицируется как серо-бурая пустынная и цеолит Чанканайского месторождения с размером частиц до 2 мм.

Для изучения влияния цеолита совместно с органическими и минеральными добавками на очистку нефтезагрязненной почвы был поставлен модельный эксперимент. Согласно схеме опыта в почву добавляли цеолит, биовермикомпост и азотные удобрения. Концентрация нефтяного загрязнения составляла 5% по объему. Контролями служила чистая почва и почва загрязненная нефтью, но без цеолита. Опыт был проведен в 3-х кратной повторности. Через 2 месяца определяли численность основных групп микроорганизмов: количество гетеротрофных и спорообразующих бактерий – на среде РПА, актиномицетов и бактерий, потребляющих минеральные формы азота на

КАА, мицелиальных грибов на среде Чапека [3]. Количество микроорганизмов выражали как число КОЕ на 1 г почвенного субстрата [4]. Угледородоокисляющую микрофлору учитывали на среде Ворошиловой-Диановой (ВД), где в качестве источника углерода и энергии использовали нефть м. Кумколь в количестве 1%. Попутно определяли каталазную и дегидрогеназную активность [5], а также количественную убыль нефти методом ГЖХ.

Результаты и обсуждение

Изученные группы микроорганизмов являются основными продуцентами биологически активных веществ и играют важную роль в почвенных процессах. Динамика численности спонтанной микрофлоры под воздействием цеолита и органоминеральных удобрений приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Численность микроорганизмов в почве с 5% нефтяным загрязнением в модельном эксперименте с цеолитом, биовермикомпостом и аммонийным и нитратным азотом через 2 месяца

Варианты	Бактерии на РПА, КОЕ/г	Спорообразующие бактерии, КОЕ/г	Бактерии на КАА, КОЕ/г	Актиномицеты, КОЕ/г	Мицелиальные грибы, КОЕ/г	УОМ НВЧ кл/г
1. Чистая почва	$(2,2 \pm 0,7) \times 10^5$	$(7,7 \pm 0,6) \times 10^3$	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^5$	$(3,5 \pm 0,8) \times 10^3$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^2$	10^2
2. Чистая почва + биовермикомпост	$(2,8 \pm 0,4) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^4$	$(6,9 \pm 0,4) \times 10^5$	$(1,2 \pm 0,5) \times 10^5$	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$	10^3
3. Чистая почва + цеолит	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^6$	$(3,4 \pm 0,4) \times 10^4$	$(7,0 \pm 0,1) \times 10^5$	$(6,5 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,5 \pm 0,4) \times 10^2$	10^2
4. Чистая почва + цеолит + биовермикомпост	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^6$	$(4,5 \pm 0,4) \times 10^4$	$(7,6 \pm 0,4) \times 10^5$	$(4,6 \pm 0,5) \times 10^5$	$(3,0 \pm 0,4) \times 10^2$	10^3
5. Почва + нефть (фон)	$(1,6 \pm 0,2) \times 10^5$	$(4,2 \pm 0,4) \times 10^4$	$(3,7 \pm 0,2) \times 10^5$	$(3,2 \pm 0,4) \times 10^3$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^3$	10^4
6. Фон + биовермикомпост 4 т/га	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^7$	$(4,0 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,05) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,4) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^4$	10^5
7. Фон + цеолит 7,5 т/га	$(3,8 \pm 0,3) \times 10^6$	$(5,0 \pm 0,4) \times 10^4$	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^5$	$(5,6 \pm 0,5) \times 10^5$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^3$	10^4
8. Фон + биовермикомпост 4,0 т/га + цеолит 7,5 т/га	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^7$	$(3,5 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,7 \pm 0,05) \times 10^7$	$(5,6 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^2$	10^6
9. Фон + биовермикомпост 6,0 т/га	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,4) \times 10^4$	$(8,0 \pm 0,3) \times 10^7$	$(6,0 \pm 0,4) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^4$	10^5
10. Фон + биовермикомпост 6,0 т/га + цеолит 7,5 т/га	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^7$	$(2,5 \pm 0,3) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,05) \times 10^7$	$(3,4 \pm 0,8) \times 10^5$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^2$	10^6
11. Фон + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 60 кг/га	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,9 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^8$	$(4,5 \pm 0,4) \times 10^5$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^4$	10^5
12. Фон + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 60 кг/га + цеолит 7,5 т/га	$(4,5 \pm 0,05) \times 10^7$	$(3,1 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^8$	$(7,8 \pm 0,2) \times 10^5$	$(6,0 \pm 0,2) \times 10^3$	10^6
13. Фон + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 180 кг/га	$(6,4 \pm 0,5) \times 10^6$	$(4,2 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,4) \times 10^8$	$(3,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(2,9 \pm 0,4) \times 10^4$	10^5
14. Фон + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 180 кг/га + цеолит 7,5 т/га	$(7,4 \pm 0,4) \times 10^7$	$(2,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(6,5 \pm 0,05) \times 10^8$	$(7,5 \pm 0,3) \times 10^5$	$(1,0 \pm 0,05) \times 10^2$	10^6
15. Фон + KNO_3 60 кг/га	$(2,4 \pm 0,2) \times 10^6$	$(4,4 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,3 \pm 0,05) \times 10^7$	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^5$	$(4,0 \pm 0,4) \times 10^3$	10^5
16. Фон + KNO_3 60 кг/га + цеолит 7,5 т/га	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^7$	$(6,3 \pm 0,5) \times 10^4$	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^7$	$(5,0 \pm 0,2) \times 10^6$	$(2,3 \pm 0,5) \times 10^3$	10^6
17. Фон + KNO_3 180 кг/га	$(6,8 \pm 0,5) \times 10^6$	$(6,5 \pm 0,4) \times 10^4$	$(4,0 \pm 0,4) \times 10^7$	$(3,5 \pm 0,4) \times 10^5$	$(3,0 \pm 0,8) \times 10^3$	10^5
18. Фон + KNO_3 180 кг/га + цеолит 7,5 т/га NO_3	$(6,9 \pm 0,4) \times 10^7$	$(6,2 \pm 0,3) \times 10^4$	$(4,8 \pm 0,6) \times 10^7$	$(6,0 \pm 0,7) \times 10^5$	$(3,2 \pm 0,4) \times 10^3$	10^6

В чистой почве численность гетеротрофных микроорганизмов была 220 тыс клеток на грамм. Добавка в варианты 2, 3, 4 биовермикомпоста и цеолита привела к увеличению их численности практически на один порядок. В фоновой почве с нефтью число гетеротрофов было несколько ниже, чем в чистой почве (160 тыс кл/г). Добавление цеолита из расчета 7,5 т/га (вариант 7) способствовало увеличению их количества до 3,8 млн. клеток, внесение биовермикомпоста в дозе 4,0 т/га (вариант 6) – до 20 млн. клеток, а в дозе 6,0 т/га (вариант 9) – до 30 млн. клеток. В вариантах при совместном использовании биовермикомпоста и цеолита (8 и 10) численность гетеротрофных бактерий была еще выше – 33 млн и 35 млн кл/г соответственно.

Внесение аммонийного азотного удобрения в дозах 60 и 180 кг/га в нефтезагрязненную почву привело к увеличению числа гетеротрофной микрофлоры по отношению к контролю на один порядок (варианты 11 и 13), а совместное их использование с цеолитом – на два порядка (варианты 12 и 14). Самая высокая численность гетеротрофных бактерий – 74 млн кл/г отмечена в варианте 14. Внесение в нефтезагрязненную почву нитратной формы азота в виде селитры в дозах 60 и 180 кг/га привело к сходным результатам: без цеолита количество гетеротрофов составляло миллионы клеток на 1 грамм почвы, а с цеолитом – десятки миллионов.

Спорообразующая микрофлора в контрольном образце составляла 7700 кл/г, использование всех мелиорантов привело к увеличению этих бактерий на порядок, но никакой определенной закономерности в их распространении не прослеживается. Максимальная численность этой группы бактерий фиксировалась в вариантах с добавлением азотных удобрений в виде селитры (62 000 – 65 000 кл/г).

Наиболее многочисленной группой микроорганизмов в эксперименте были бактерии, способные усваивать минеральный азот. В первых четырех, в пятом фоновом и в седьмом экспериментальных вариантах численность этих бактерий составляла десятки тысяч клеток в граммe почвы. Начиная с восьмого варианта их количество резко увеличилось – на два, три порядка и стало составлять десятки и даже сотни миллионов клеток в граммe почвы. Максимальное число бактерий, способных усваивать минеральный азот было в варианте 14, с внесением аммонийного удобрения в дозе 180 кг/га и цеолитом.

Важной для почвенного плодородия является группа актиномицетов, благодаря своей способности легко приспосабливаться к среде и довольствоваться органическими соединениями, которые могут быть непригодны для других микроорганизмов. Однако на качественный и количественный состав их в почве большое влияние оказывают тип почвы, ее химические и физические свойства. Окультуренность, влагоемкость и другие качества. Из таблицы 1 видно, что в чистой почве количество этих микроорганизмов незначительно (3500 кл/г). Добавление в чистую почву биовермикомпоста повысило число этой группы сразу на два порядка. Внесение в эту же почву только цеолита увеличило их число в два раза. Более резкое увеличение численности произошло при совместном внесении биогумуса и цеолита – до 460000 кл/г (вариант 4). В фоновом варианте с нефтью их насчитывалось приблизительно столько же, сколько в чистой почве. Внесение всех мелиорантов привело к увеличению их численности. Самые высокие значения численности актиномицетов отмечены в вариантах 12 и 14 и составляли 780 000 и 750 000 кл/г соответственно.

Микроскопические грибы также играют важную роль в процессах, происходящих в почве, оказывают влияние на ее плодородие, разлагают органические соединения до доступных для других микроорганизмов и растений соединений. Кроме того, они синтезируют биологически активные вещества, которые оказывают как положительное, так и отрицательное влияние на другие организмы, задерживают рост и развитие растений, вызывают их заболевания, токсикоз почвы – меняют количественный и качественный состав микрофлоры. Проведенный модельный эксперимент показал, что численность мицелиальных грибов в чистой почве была незначительна, всего 150 грибных спорыньи в граммe почвы. Внесение биовермикомпоста увеличило их число в чистой почве на порядок, внесение только цеолита и цеолита с биогумусом практически не привело к увеличению их количества. В фоновом варианте опыта (почва + нефть) количество мицелиальных грибов резко возросло до 20 000 грибных спорыньи. Такой же была их численность и в варианте с нефтью и биовермикомпостом (варианты 6 и 9). Внесение в нефтезагрязненную почву азота в аммиачной форме без цеолита также привело к увеличению их числа (варианты 11 и 13), но добавка в виде цеолита уменьшила их количество. Внесение в почву селитры практически не сказалось на численности мицелиальных грибов.

Микробная деструкция нефтяных углеводородов является основным механизмом восстановления качества нефтезагрязненных почв. Эту функцию выполняют так называемые углеводород-окисляющие микроорганизмы, поэтому определение их численности в эксперименте становится крайне важным. Эти микроорганизмы, за исключением метаноокисляющих, не являются узкоспециализированными. От других членов гетеротрофного микробиоценоза они отличаются тем, что способны поглощать гидрофобные соединения нефти и нефтепродуктов, а также использовать их в конструктивном и энергетическом обменах. Эти микроорганизмы способны минерализовать нефтяные углеводороды до диоксида углерода и воды или превращать в соединения, утилизируемые другими микроорганизмами [6]. В случае загрязнения почвы нефтяными углеводородами такие микроорганизмы получают преимущество, именно их размножением обусловлен эффект самоочищения почвы [7]. В таксономическом отношении эти микроорганизмы представлены различными группами, среди них есть актиномицеты, мицелиальные грибы, но в большинстве своем это бактериальные формы. Наиболее эффективно очистка нефтезагрязненной почвы происходит в том случае, когда в почве развивается достаточное количество углеводородокисляющей микрофлоры.

Результаты модельного эксперимента показали, что в контрольном варианте опыта количество углеводородокисляющих микроорганизмов составляло 10^2 кл/г, при искусственном загрязнении нефтью оно увеличилось до 10^4 кл/г. Внесение мелиорантов в почву значительно повысило их число. Самые высокие значения этой группы микроорганизмов (10^6) отмечены в вариантах опыта с внесением биовермикомпоста в дозах 4,0 и 6,0 т/га совместно с цеолитом, а также с аммонийными и нитратными формами азота и цеолитом.

Изучение ферментативной активности показало, что в чистой почве каталазная активность была 3,9 O_2 /мин/г (таблица 2). Загрязнение почвы нефтью привело к резкому ее снижению, до 1,3 O_2 /мин/г. В опытных вариантах внесение цеолита и исследуемых мелиорантов привело к постепенному повышению каталазной активности. Самые высокие показатели фермента каталазы отмечены в варианте модельного опыта, когда в чистую почву вносили биовермикомпост – 4,5 O_2 /мин/г. В почве, загрязненной нефтью, внесение этого мелиоранта привело к увеличению

Таблица 2 – Степень очистки нефтезагрязненной почвы в модельном эксперименте с помощью спонтанной микрофлоры, цеолита, биовермикомпоста, а также различных форм азота и ферментативная активность через 2 месяца

Варианты	Степень утилизации нефти, %	Каталазная активность, O_2 /мин/г	Дегидрогеназная активность, мкг/ГФФ/г/сут
1. Чистая почва	–	3,9	1,25
2. Чистая почва + биовермикомпост	–	4,3	1,36
3. Чистая почва + цеолит	–	3,5	1,23
4. Чистая почва + цеолит + биовермикомпост	–	4,5	1,45
5. Почва + нефть (фон)	15,9	1,3	0,48
6. Фон + биовермикомпост 4 т/га	40,2	2,9	0,51
7. Фон + цеолит 7,5 т/га	48,4	2,7	0,60
8. Фон + биовермикомпост 4,0 т/га + цеолит 7,5 т/га	60,9	2,9	0,84
9. Фон + биовермикомпост 6,0 т/га	45,8	2,8	0,71
10. Фон + биовермикомпост 6,0 т/га + цеолит 7,5 т/га	63,5	3,0	0,80
11. Фон + $(NH_4)_2SO_4$ 60 кг/га	39,4	1,8	0,54
12. Фон + $(NH_4)_2SO_4$ 60 кг/га + цеолит 7,5 т/га	49,8	2,0	0,64
13. Фон + $(NH_4)_2SO_4$ 180 кг/га	40,5	2,0	0,55
14. Фон + $(NH_4)_2SO_4$ 180 кг/га + цеолит 7,5 т/га	51,9	2,9	0,69
15. Фон + KNO_3 60 кг/га	30,4	1,6	0,49
16. Фон + KNO_3 60 кг/га + цеолит 7,5 т/га	46,6	2,2	0,65
17. Фон + KNO_3 180 кг/га	35,6	1,9	0,42
18. Фон + KNO_3 180 кг/га + цеолит 7,5 т/га NO_3	49,5	2,3	0,64

каталазы до 2,9 O₂/мин/г, а добавление еще и цеолита до 3,0 O₂/мин/г. В вариантах с использованием аммонийного удобрения и цеолита каталазная активность была примерно на том же уровне. При внесении нитратного удобрения каталазная активность была несколько ниже от 1,6 до 2,3 O₂/мин/г (доза селитры 180 кг/га + цеолит).

Схожая динамика отмечена и для дегидрогеназной активности. В чистой почве она составила 1,25 мкг/ТФФ/г/сут, в загрязненной (фон) – 0,48 мкг/ТФФ/г/сут, в опытных вариантах – от 0,42 до 0,84 мкг/ТФФ/г/сут. Самые высокие показатели фермента дегидрогеназы были в почве с добавлением биовермикомпоста в дозе 4,0 мкг/ТФФ/г/сут и цеолита.

Проведены исследования по оценке степени очистки нефтезагрязненной почвы с помощью цеолита, биовермикомпоста, а также различных форм азота в модельном эксперименте через 2 месяца инкубации (таблица 2) Определение убыли нефти в исследуемых почвенных образцах газожидкостным методом показало, что во всех вариантах опыта произошло снижение количества внесенной нефти по отношению к контролю. Самая значительная убыль нефти отмечена в варианте с добавлением биовермикомпоста 6,0 т/га и цеолита 7,5 т /га и составила 63,3%. В аналогичном варианте, но при дозе биовермикомпоста 4,0 т/га утилизация нефти в почве составила 60,9 %. Слабее всего деструкция нефти проходила в почве с добавлением селитры.

Таким образом, в результате проведенного модельного эксперимента установлено, что с использованием цеолита численность практически всех физиологических групп микроорганизмов увеличивается. Это, в свою очередь, приводит к интенсификации всех почвенных процессов и способствует очистке почвы от нефтяного загрязнения. В опытных образцах наиболее существенные изменения в динамике численности микроорганизмов, потребляющих органический азот, произошли в вариантах с использованием цеолита и биовермикомпоста в дозе 6,0 т/га. Количество бактерий, использующих минеральный азот, резко увеличилось при добавлении в почву наряду с цеолитом азота в аммиачной форме. В этих же вариантах значительно возросло число актиномицетов. Максимальное значение мицелиальных грибов отмечено при внесении в почву цеолита с нитратным удобрением в дозе 180 кг/га. Самая значительная убыль нефти отмечена в варианте с добавлением биовермикомпоста 6,0 т/га и цеолита 7,5 т /га и составила 63,3%. В аналогичном варианте, но при дозе биовермикомпоста 4,0 т/га утилизация нефти в почве составила 60,9%. В этом же варианте зафиксирована максимальная каталазная активность среди опытных образцов – 3,0 O₂/мин/г. Наибольшее число фермента дегидрогеназы отмечено в варианте с цеолитом и биовермикомпостом, который вносили из расчета 4 т/га, оно составляло 0,84 мкг/ТФФ/г/сут.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Терещенко Н.Н., Лушников С.В., Митрофанова Н.А., Пилипенко С.В. Особенности биологической рекультивации нефтезагрязненных и техногенно засоленных почв // Экология и промышленность России. – 2005. – № 6. – С. 63-68.
- 2 Коновалова Е.В. Влияние цеолитов и фитомелиоранта на агроэкологические показатели нефтезагрязненных почв в криоаридных условиях Забайкалья: Дис. ... канд. с.-х. наук. – Улан-Удэ, 2009. – 142 земель сухих субтропиков. – М.: Наука, 1988. – С. 206-221.
- 3 Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: Изд-во МГУ, 1976. – С. 56-124.
- 4 Колешко О.И. Экология микроорганизмов. – Минск: Высшая школа, 1981. – 120 с.
- 5 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. – С. 59-75.
- 6 Кураков А.В., Ильинский С.В., Котелевцев С.В., Садчиков А.П. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях. – М., 2006. – 330 с.
- 7 Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32, № 6. – С. 579-582.

REFERENCES

- 1 Tereshhenko N.N., Lushnikov S.V., Mitrofanova N.A., Pilipenko S.V. Osobennosti biologicheskoy rekul'tivacii neftezagryaznennykh i tehnogenno zasolennykh pochv. Jekologija i promyshlennost' Rossii. 2005. № 6. S. 63-68.
- 2 Konovalova E.V. Vlijanie ceolitov i fitomelioranta na agrojekologicheskie pokazateli neftezagryaznennykh pochv v krioaridnykh uslovijah Zabajkal'ja: Dis. ... kand. s.-h. nauk. Ulan-Udje, 2009. 142 zemel' suhijh subtropikov. M.: Nauka, 1988. S. 206-221.
- 3 Egorov N.S. Praktikum po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1976. S. 56-124.
- 4 Koleshko O.I. Jekologija mikroorganizmov. Minsk: Vysshaja shkola, 1981. 120 s.
- 5 Zvjagincev D.G. Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii. M.: Izd-vo MGU, 1991. S. 59-75.
- 6 Kurakov A.V., Il'inskij S.V., Kotelevcev S.V., Sadchikov A.P. Bioindikacija i reabilitacija jekosistem pri nefjtjanyh zagryaznenijah. M., 2006. 330 s.
- 7 Koronelli T.V. Principy i metody intensifikacii biologicheskogo razrushenija uglevodorodov v okruzhajushhej srede. Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 1996. T. 32, № 6. S. 579-582.

Резюме

*А. К. Саданов¹, У. Р. Ыдырысова², Т. Б. Мұсалдинов², О. Н. Әуезова²,
С. А. Айткелдиева¹, Д. Ж. Ыдырысова², Н. С. Ашықбаев², Ж. М. Қабденов²*

¹ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан,
²ЖСШ «Таза Су», Алматы, Қазақстан)

**МҰНАЙМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚТЫ ТАЗАРТУДА ОРГАНИКАЛЫҚ
ЖӘНЕ МИНЕРАЛДЫҚ ҚОСПАДАҒЫ ЦЕОЛИТТІҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ**

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, цеолит, биовермикомпост және азот тыңайтқыштарын енгізу мұнаймен ластанған топырақтың спонтанды микрофлорасына оң әсерін тигізіп, гетеротрофты бактериялар, актиномицеттер және көмірсутек тотықтырғыш микроорганизмдердің мөлшерін айрықша арттырады. Топырақтағы мұнайдың азаюы цеолит 7,5 т/га және биовермикомпост 6,0 т/га енгізген нұсқасында жоғары көрсеткіш көрсетіп, 63,3% құрады. Осы қолайлы жағдайда катализдық және дегидрогеназдық белсенділіктің ең жоғары көрсеткіші тіркелді.

Тірек сөздер: мұнаймен ластанған топырақ, цеолит, биовермикомпост, азот тыңайтқыштары, спонтанды микрофлора.

Summary

*A. K. Sadanov¹, U. R. Idrisova², T. B. Musaldinov², O. N. Auezova²,
S. A. Aytkeldieva¹, D. Zh. Idrisova², N. S. Ashykbaev², Zh. M. Kabdenov²*

¹«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,
²«Taza Su»LLP, Almaty, Kazakhstan)

**STUDY OF ZEOLITE WITH ORGANIC AND MINERAL SUPPLEMENTS
FOR CLEANING OIL-CONTAMINATED SOIL**

Studies have shown that the introduction of zeolite biovermikompost and nitrogen fertilizers in the oily soil favorably influences on spontaneous microflora: a growing share of heterotrophic bacteria, actinomycetes and hydrocarbon-oxidizing microorganisms is greatly increased. The most significant decline in oil was noted in variant with the addition biovermi-kompost 6.0 t/ha and zeolite 7.5 t/ha and was 63.3%. Under these conditions a maximum catalase and dehydrogenase activity were fixed.

Keywords: oil-polluted soil, zeolite, biovermikompost, nitrogen fertilizers, spontaneous microflora.

Поступила 10.0.2014 г.

УДК 504.53.062.4

*А. К. САДАНОВ¹, У. Р. ИДРИСОВА², С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА¹,
Т. Б. МУСАЛДИНОВ², Д. Ж. ИДРИСОВА², Э. Р. ФАЙЗУЛИНА²,
А. А. ШИЛМАНОВА², Н. С. АШЫКБАЕВ², Ж. М. КАБДЕНОВ²*

¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,
²ТОО «Таза Су», Алматы, Казахстан. E-mail: taza-su@mail.ru)

**ВЛИЯНИЕ ЦЕОЛИТНОГО ОРГАНОМИНЕРАЛЬНОГО УДОБРЕНИЯ
НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ПОД РИСОМ**

Аннотация. Изучено влияние цеолитно-органоминерального удобрения на микрофлору и на ферментативную активность почв по фазам развития риса. В результате воздействия мелиорантов отмечено увеличение численности гетеротрофных и свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов, а также ферментативная активность с одновременным снижением темпов дегумификации почвы, что подтверждается данными УКГ, которое в опыте составило 47,8%, в контроле – 30%.

Ключевые слова: цеолит, органоминеральные удобрения, рис, микрофлора, ферментативная активность, условный коэффициент гумификации.

Тірек сөздер: цеолит, органоминералды тыңайтқыштар, күріш, микрофлора, ферменттік белсенділік, гумификацияның шартты коэффициенті.

Keywords: zeolite, organic fertilizer, rice, microflora, enzyme activity, conditional factor humification.

Под рисосеянием в Казахстане значительное место занимают солонцеватые и такыровидные сильнозасоленные почвы с характерным низким потенциальным плодородием и избыточным содержанием токсичных солей. Длительная эксплуатация затопляемых почв в рисоводстве без надлежащих мелиоративных мероприятий по воспроизводству плодородия привела к резкому снижению показателей почвенного плодородия. В условиях неблагоприятного эколого-мелиоративного состояния почв потери самой подвижной воднорастворимой формы гумуса за один сезон достигают 12–36% [1–3].

Известно, что в мировой практике для улучшения мелиоративного состояния почв используются классические методы с использованием мелиорантов гипса или фосфогипса. Также имеются разработки по воспроизводству и повышению плодородия экологически нарушенных и засоленных земель за счет внедрения новых прогрессивных агротехнологий (химической и фитомелиорации), природных мелиорантов и почвенных биотехнологий [3].

В настоящее время вызывает значительный интерес применение природного минерала цеолита в качестве минерального удобрения и мелиоранта в сельском хозяйстве, в частности растениеводстве. Цеолиты широко используются в сельском хозяйстве Японии, США, Болгарии, Венгрии и Польше. При их использовании повышается плодородие почв и создается эффект минеральных удобрений, улучшаются водно-физические свойства почв. Цеолит является резервуаром для воды и поддерживает необходимую влажность почвы. Кроме того, он улучшает аэрацию почвы, является резервуаром хранения питательных веществ и минеральных удобрений. Цеолит предохраняет от вымывания из почвы растворимые компоненты традиционных удобрений и повышает длительность их действия, снижает негативное действие тяжелых металлов, содержащихся в составе фосфогипса при мелиорации солонцовых почв [4–6].

Целью настоящей работы было изучение влияния цеолитного органоминерального удобрения на биологическую активность почв под рисом по фазам развития.

Материалы и методы

На стационарном участке Караултобе КазНИИР им. И. Жахаева Кызылординской области (4-ая карта, 6 чек) заложены мелкоделяночные опыты с культурой риса сорта Маржан. Почва участка рисово-болотная разной степени засоления, тяжелосуглинистого гранулометрического состава.

Эксперимент включал следующие варианты:

1. Контроль – почва без удобрений и мелиорантов.
2. N₁₂₀P₁₂₀K₉₀ (фон).
3. Фон + Ц^{II} – 2,5 т/га + БВК – 3,0 т/га + БД.

Биодобавка (БД) состояла из смеси азотфиксирующих, фосфатмобилизирующих и силикатных микроорганизмов. Биовермикомпост (БВК) – высокогумусированное удобрение, биоорганический продукт переработки навоза животных калифорнийскими червями и метаболизма широкого спектра почвенных микроорганизмов. Ц^{II} – цеолит пылеватая фракция

Для определения эффективности цеолитно органоминерального удобрения с биодобавкой изучалось его воздействие на биологическую активность почв. Исследовалась численность основных групп микроорганизмов: гетеротрофных бактерий, актиномицетов, мицелиальных грибов, а также аэробных и анаэробных азотфиксирующих микроорганизмов в почвенных образцах, отобранных с пахотного горизонта (0–20 см), перед закладкой опыта и посевом риса и в биовермикомпосте.

Численность основных групп микроорганизмов в почве определяли общепринятыми микробиологическими методами [7]. Дегидрогеназную активность определяли фотокolorиметрическим методом [8]. Активность полифенилоксидазы и пероксидазы определяли по Л.А. Карягиной, Н.А. Михайловской [9].

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что наибольшая численность гетеротрофных бактерий и актиномицетов отмечена в пробах биовермикомпоста (таблица 1). В почвенных образцах отобранных до посева риса количественные показатели этих групп микроорганизмов были на 1 порядок ниже. Численность микромицетов в БВК составляла порядка 10^3 КОЕ/г, тогда как в почве была на два порядка выше. Количество аэробных азотфиксирующих микроорганизмов составляло порядка 10^5 КОЕ/г. Содержание анаэробных азотфиксаторов в БВК было на порядок выше – 10^4 кл/г.

Таблица 1 – Численность микроорганизмов в почвенных образцах до посева риса и биогумусе

Образцы проб	Гетеротрофные бактерии, КОЕ/г	Микромицеты, КОЕ/г	Актиномицеты, КОЕ/г	Аэробные азотфиксаторы, КОЕ/г	Анаэробные азотфиксаторы, НВЧ кл/г
Карта – 4, чек №6	$(1,8 \pm 0,1) \times 10^6$	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^5$	$(8,0 \pm 2,0) \times 10^4$	$(3,3 \pm 0,1) \times 10^5$	$1,4 \times 10^3$
Биовермикомпост	$(4,3 \pm 0,5) \times 10^7$	$(3,5 \pm 1,3) \times 10^3$	$(3,2 \pm 0,4) \times 10^5$	$(8,5 \pm 0,2) \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$

Данные по численности микроорганизмов в отобранных почвенных образцах в фазу начала кушения риса представлены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что в контрольном варианте численность гетеротрофных бактерий изменилась незначительно – в 1,8 раз по сравнению с исходными данными. Внесение в почву мелиорантов с биодобавкой привело к увеличению численности гетеротрофных бактерий на порядок.

Таблица 2 – Численность микроорганизмов в почвенных образцах в фазе начала кушения риса

Варианты опыта	Гетеротрофные бактерии, КОЕ/г	Микромицеты, КОЕ/г	Актиномицеты, КОЕ/г	Аэробные азотфиксаторы, КОЕ/г	Анаэробные азотфиксаторы, НВЧ кл/г
Контроль	$(3,16 \pm 0,12) \times 10^6$	$(3,45 \pm 0,42) \times 10^3$	$(1,30 \pm 0,25) \times 10^5$	$(2,42 \pm 0,11) \times 10^5$	10^3
N ₁₂₀ P ₁₂₀ K ₉₀ (фон)	$(9,80 \pm 0,22) \times 10^6$	$(3,40 \pm 0,41) \times 10^3$	$(2,50 \pm 0,35) \times 10^5$	$(1,15 \pm 0,24) \times 10^6$	10^4
Фон + Ц ^{II} – 2,5 т/га + БВК 3,0 т/га + БД	$(24,5 \pm 3,5) \times 10^7$	$(1,0 \pm 0,15) \times 10^4$	$(3,60 \pm 0,42) \times 10^5$	$(5,29 \pm 0,16) \times 10^7$	10^5

Численность микроскопических грибов во всех образцах была практически на одном уровне и составляла порядка 10^3 КОЕ/г. Однако во всех вариантах наблюдалось снижение содержания микромицетов с 10^5 КОЕ/г до посева (таблица 1) до 10^3 – 10^4 КОЕ/г в период начала кушения риса. Внесение цеолита совместно с органоминеральными удобрениями и биодобавками сильно не влияло на количественные показатели актиномицетов. Наибольшее их число отмечено при совместном внесении минеральных удобрений, цеолита (2,5 т/га), БВК (3,0 т/га) и биодобавки – $(3,60 \pm 0,42) \times 10^5$ КОЕ/г.

Количество аэробных азотфиксирующих микроорганизмов в контрольном варианте, выявленных в период кушения риса, сильно не изменилось по сравнению с предпосевным периодом. Внесение же всех добавок способствовало увеличению их численности на порядок. Наибольшее содержание свободноживущих аэробных азотфиксирующих микроорганизмов отмечено в варианте, куда вносилась биодобавка, в состав которой входил штамм азотфиксирующих микроорганизмов *Azotobacter chroococcum*.

На два порядка увеличилась численность анаэробных азотфиксаторов в опытных образцах в варианте 3 (фон + Ц^{II} 2,5 т/га + БВК 3,0 т/га + БД) их количество было – 10^5 кл/г. В целом наибольшая численность микроорганизмов отмечена при комплексном внесении всех добавок.

Результаты микробиологического анализа образцов почв, отобранных в период уборки риса, представлены в таблице 3.

Из данных таблицы 3 видно, что в период уборки в ризосфере риса произошло увеличение численности гетеротрофных бактерий в варианте 3 (Фон + Ц^{II} – 2,5 т/га + БВК – 3,0 т/га + БД) – $(20,0 \pm 3,2) \times 10^6$ КОЕ/г. Численность микроскопических грибов в опытных образцах была на один – порядок выше, чем в контроле и составила $(1,0 \pm 0,15) \times 10^4$ КОЕ/г. Количество актиномицетов не

Таблица 3 – Численность микроорганизмов в почвенных образцах в период уборки риса

Варианты опыта	Гетеротрофные бактерии, КОЕ/г	Микромицеты, КОЕ/г	Актиномицеты, КОЕ/г	Аэробные азотфиксаторы, КОЕ/г	Анаэробные азотфиксаторы, НВЧ кл/г
Контроль	$(2,50 \pm 0,35) \times 10^5$	$(1,25 \pm 0,25) \times 10^4$	$(4,5 \pm 0,9) \times 10^3$	Единицы	$1,3 \times 10^3$
N ₁₂₀ P ₁₂₀ K ₉₀ (фон)	$(2,35 \pm 0,34) \times 10^5$	Единицы	$(5,5 \pm 1,7) \times 10^3$	Единицы	$6,0 \times 10^3$
Фон + Ц ^{II} -2,5 т/га + БВК 3,0 т/га + БД	$(20,0 \pm 3,2) \times 10^6$	$(3,5 \pm 0,15) \times 10^3$	$(1,4 \pm 0,22) \times 10^3$	$(2,6 \pm 0,36) \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$

изменялось, оно составило 10^3 КОЕ/г. Отмечено увеличение численности аэробных азотфиксирующих микроорганизмов, их количество составила – 10^2 – 10^3 КОЕ/г. На один-два порядка была выше численность анаэробных азотфиксаторов – $2,5 \times 10^5$ НВЧ кл/г.

Таким образом, можно отметить, что в фазу кушения риса внесение цеолита совместно с органоминеральными удобрениями и биодобавкой способствовало увеличению численности гетеротрофных бактерий и свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов. Действие комплексной цеолитно-органоминеральной добавки сохранилось до уборки риса. Соотношение количества клеток микроорганизмов сохранилось по вариантам опыта, но наблюдается снижение численности на один порядок. Также изменилось соотношение аэробных и анаэробных азотфиксаторов в пользу последних. Наибольшая биогенность почвы наблюдалась в вариантах опыта с биовермикомпостом и цеолитом.

Почвенные ферменты определяют интенсивность и направленность биохимических процессов, протекающих в почве. Их активность может служить дополнительным показателем биологической активности и плодородия почв.

В ходе проведенных исследований была определена активность ферментов дегидрогеназы, полифенолоксидазы и пероксидазы (таблица 4). Установлено, что в фазе кушения риса внесение цеолита, органоминеральных удобрений и биодобавки способствовало усилению активности дегидрогеназы, которая составляла 4,03–9,12 мг ТТХ/10г/сут, по сравнению с контролем (3,89 ТТХ/10г/сут). Внесение цеолитно-органоминеральных добавок также привело и к повышению активности полифенолоксидазы, которая возросла на 12,5–37,5% по сравнению с контролем. Отмечалось увеличение в опытных образцах пероксидазной активности на 2,2–14,1%.

Таблица 4 – Ферментативная активность почвенных образцов в период кушения и уборки риса

Варианты опыта	Дегидрогеназа, мг ТТХ/10г/сут.		Полифенолоксидаза, мг бензохинона/г/30 мин		Пероксидаза, мг бензохинона/г/30 мин		УКГ, %	
	кушение	уборка	кушение	уборка	кушение	уборка	кушение	уборка
Контроль	3,89	1,23	0,32	0,30	0,92	1,00	34,8	30,0
N ₁₂₀ P ₁₂₀ K ₉₀ (фон)	5,65	1,56	0,40	0,36	1,05	0,98	38,1	36,7
Фон + Ц ^{II} -2,5 т/га + БВК 3,0 т/га + БД	9,12	2,93	0,44	0,44	0,78	0,92	56,3	47,8

Более высокая активность пероксидазы по сравнению с полифенолоксидазой свидетельствует о процессах деструкции гумуса в почве по вариантам опыта, поскольку по фону минеральных удобрений растет потребление органического вещества почв. Это наиболее заметно в вариантах контроль и фон. Внесение органики (БВК) в почву снижает уровень данного процесса, о чем свидетельствует условный коэффициент гумификации, который превышал данные контроля.

В период уборки риса наблюдалось снижение дегидрогеназной активности почвы. Это согласуется с данными по численности микроорганизмов, количество которых в этот период также уменьшилось. Однако в опытных образцах активность фермента была выше, чем в контроле, что говорит о положительном влиянии цеолитно-органоминеральных удобрений. Полифенолоксидазная активность не изменилась.

Активность пероксидазы снизилась практически во всех опытных вариантах, тогда как в контроле и варианте с внесением биодобавки по фону НРК она, наоборот, увеличилась. Наибольшая активность отмечена в контроле и в варианте с внесением минеральных удобрений – 1,0 и 0,98 мг бензохинона/г/30 мин соответственно.

Внесение в почву цеолита совместно с органоминеральными удобрениями и биодобавкой способствовало замедлению темпов минерализации гумуса, о чем свидетельствуют показатели УКГ, которое в опыте составило 47,8%, в контроле – 30%.

Таким образом, полученные результаты показали, что внесение цеолитно-органоминеральных добавок способствовало увеличению численности гетеротрофных и свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов, а также ферментативной активности. Отмечены снижение темпов дегумификации почвы под рисом, что ведет к повышению ее плодородия.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Крутилина В.С. Экологическая оценка использования природных цеолитов при химической мелиорации солонцовых почв // *Аграрная наука*. – 2001. – № 2. – С. 10-11.
- 2 Бодня М.С. Применение цеолитсодержащего минерального сырья для ремедиации техногенно-загрязненных почв // *Вопросы современной науки и практики*. – 2008. – Т. 2, № 1(11). – С. 146
- 3 Степанова Л.П. Природные цеолиты распространение, генезис, структура и свойства цеолитов, использование в сельском хозяйстве. – ОГАУ. – Орел, 2005.
- 4 Челищев Н.Ф., Челищева Р.В. Использование природных цеолитов // *Вестник сельскохозяйственных наук*. – 1978. – № 2. – С. 56-60.
- 5 Постников А.В., Илларионова Э.С. Использование цеолитов в растениеводстве // *Агрохимия*. – 1990. – № 7. – С. 113-125.
- 6 Методическое руководство по изучению природных цеолитов в растениеводстве и земледелии. – Красноярск, 1993. – 30 с.
- 7 Практикум по микробиологии / Под ред. А. Н. Нетрусова. – М.: Academia, 2005. – 597 с.
- 8 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – С. 59-75.
- 9 Карягина Л.А., Михайловская Н.А. Определение активности полифенолоксидазы и пероксидазы // *Вести АН БССР. Сер. сельскохозяйств. наук*. – 1986. – № 2. – С. 40-41.

REFERENCES

- 1 Krutilina V.S. *Agrarnaja nauka*. 2001. 2. P. 10-11.
- 2 Bodnja M.S. *Voprosy sovremennoj nauki i praktiki*. 2008. T. 2, N 1(11). P. 146.
- 3 Stepanova L.P. *OGAU*. 2005.
- 4 Chelishhev N.F., Chelishheva R.V. *Vestnik sel'skhozjajstvennyh nauk*. 1978. 2. P. 56-60.
- 5 Postnikov A.V., Illarionova Je.S. *Agrohimija*. 1990. 7. P. 113-125.
- 6 Metodicheskoe rukovodstvo po izucheniju prirodnyh ceolitov v rastenievodstve i zemledelii. 1993. P. 30.
- 7 Praktikum po mikrobiologii. Pod red. A. N. Netrusova. 2005. P. 597.
- 8 Zvjagincev D.G. *Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii*. 1991. P. 59-75.
- 9 Karjagina L.A., Mihajlovskaja N.A. *Vesti AN BSSR. Ser. sel'skogospod. nauk*. 1986. 2. P. 40-41.

Резюме

А. К. Саданов¹, У. Р. Ыдрысова², С. А. Айткелдиева¹, Т. Б. Мұсалдинов²,
Д. Ж. Ыдрысова², Э. Р. Файзулина², А. А. Шілманова², Н. С. Ашықбаев², Ж. М. Қабденов²

(¹ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан,
²ЖСШ «Таза Су», Алматы, Қазақстан)

ЦЕОЛИТТИ ОРГАНОМИНЕРАЛДЫ ТЫҢАЙТҚЫШТЫҢ КҮРІШ ЕГІСІ ТОПЫРАҒЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ

Күріштің әртүрлі кезеңдері бойынша цеолитті-органоминералды тыңайтқыштардың топырақтағы микрофлорасын және ферменттік белсенділігі зерттелді. Мелиоранттардың әсерінен гетеротрофты және еркін тіршілік ететін азот фиксациялайтын микроорганизмдерінің саны, сонымен қатар топырақтың дегумификациясының бірқалыпты қарқындылығы төмендеуімен ферменттік белсенділігі жоғарылады. Оның ГШК көрсеткіштері тәжірибеде 47,8%, ал бақылауда – 30%-ды құрайтынын көрсетті.

Тірек сөздер: цеолит, органоминералды тыңайтқыштар, күріш, микрофлора, ферменттік белсенділік, гумификацияның шартты коэффициенті.

Summary

*A. K. Sadanov¹, U. R. Idrisova², S. A. Ayteldieva¹, T. B. Musaldinov²,
D. Zh. Idrisova², E. R. Faizulina², A. A. Shilmanova², N. S. Ashykbayev², Zh. M. Kabdenov²*

(¹«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,

²«Taza Su» LLP, Almaty, Kazakhstan)

**INFLUENCE OF THE ZEOLITIC ORGANOMINERAL FERTILIZERS
ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE SOIL UNDER RICE**

The influence of zeolite-organic mineral fertilizer on the microflora and enzyme activity in soil by stages of rice development was studied. As a result of ameliorants' influence number of heterotrophic and free-living nitrogen-fixing microorganisms and enzyme activity with a simultaneous decrease in the rate of Dehumification so increase, which was confirmed by the GMC, which were in experiment – 47,8%, in control – 30%.

Keywords: zeolite, organic fertilizer, rice, microflora, enzyme activity, conditional factor humification.

Поступила 10.0.2014 г.

Юбилейные даты

САБАНШИЕВ Мәжит Сабаншыұлы 70 жаста



Қазақтың паразитология ғылымының республика бойынша білікті маманы, биология ғылымының докторы, профессор, Қазақ ұлттық аграрлық университетінің биологиялық қауіпсіздік кафедрасының профессоры **Сабаншиев Мәжит Сабаншыұлы** биыл 70 жасқа толды.

Мәжит Сабаншыұлы 1944 ж. 15 қаңтарда Алматы облысы Панфилов ауданы Ынтылы ауылында дүниеге келіп, 1967 жылы Алматы зоотехникалық-малдәрігерлік институтын, 1973 жылы Мәскеудегі Бүкілодақтық эксперименталдық ветеринария институтының аспирантурасын бітірген.

Еңбек жолы Панфилов ауданы «Красный Восток» ұжымының бас малдәрігері (1967–1969 жж.) мамандығынан басталды. 1973–1996 жж. Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институтында кіші, аға ғылыми қызметкер, зертхана меңгерушісі болып қызмет атқарды.

1996–2001 жж. Қазақ ұлттық аграрлық университетінде кафедра меңгерушісі қызметтерін абыроймен атқарды. 2001 жылдан бастап кафедра профессоры.

М. С. Сабаншиев аграрлық ғылым саласы бойынша жоғары санатты маман, биология, ветеринария, паразитология, саласына зор үлес қосқан ғалым, іскер ұйымдастырушы ретінде танылды. Қай жерде жұмыс істесе де өз ісіне берілген еңбек сүйгіштігімен, парасаттылығымен, ұжым алдындағы келелі мәселелерді іскерлікпен шешумен үлгі-өнеге көрсете білді, сол қасиеттерінің арқасында шәкірттерінің, әріптестерінің арасында айрықша құрметке, лайықты беделге ие болды.

Мәжит Сабаншыұлы 200-ден аса ғылыми еңбектің, оның ішінде 2 оқулық кітаптың, 5 оқу құралының, 30-дан астам оқу әдістемелік жинақтың, 25-тен астам алдын ала және инновациялық патенттердің иегері. ҚР Білім беру ісінің құрметті қызметкері (2005 ж.), ЖОО-ның үздік оқытушысы мемлекеттік грантының иегері (2009 ж.). Тікелей ғылыми жетекшілік етуімен 4 ғылым докторын, 6 ғылым кандидатын дайындап шығарған. Ғалым педагог ретінде Қазақстан ғылымы мен біліміне сіңірген еңбегі үшін ҚР Ауыл шаруашылығы министрлігі мен ҚР Білім және ғылым министрлігінің Құрмет грамоталарымен марапатталған.

Жұбайы – медицина ғылымының кандидаты, доцент, Райгүл Үшкемпірқызы екеуі отбасында екі ұл, бес немере тәрбиелеп отыр.

Мәжит Сабаншыұлын 70 жасқа толған мерейтойымен құттықтай отырып, зор денсаулық, жасына ұзақтық, шығармашылық табыс, қажымас қайрат, отбасына бірлік, дастарханына Алла береке берсін деп тілейміз!

*А. М. Мелдебеков, «Зоология институты» РМК
бас директоры, ҰҒА академигі,
М. Ж. Сүлейменов, бас директордың
ғылым жөніндегі орынбасары*

МАЗМҰНЫ

Биология және медицина – аймаққа

<i>Абдрасулова Ж.Т., Құжантаева Ж.Ж.</i> Тарының жүгерінің тұқымдарын зардаптайтын саңырауқұлақтар мен бактериялар түрлері.....	3
<i>Аманбаева М.Б., Есенбекова П.А.</i> «Алтын-емел» мемлекеттік ұлттық табиғи паркінің жартылай қаттықанаттылары (Heteroptera) фаунасы.....	8
<i>Біорысова Д.Т., Мұхамедова Н.С., Жүсіпова Б.К., Жұмаділова Ж.Ш., Шорабаев Е.Ж.</i> Дала жағдайында мұнаймен ластанған топыраққа органоминералды тыңайтқыштардың әсерін бағалау.....	11

Теориялық және тәжірибелік зерттеулер

<i>Әйтенова Ә.А.</i> Төменгі жиіліктегі электромагниттік өрістердің өсімдіктегі биологиялық жүйелерге әсерінің экологиялық аспектілері.....	17
<i>Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Зайцева И.А., Соколова Н.С., Тұрмағамбетова А.С., Коренькин Д.Ю., Богоявленский А.П., Березин В.Э.</i> Кемпферола гликозидтердің вирусынталандырғыш белсенділіктерін зерттеу.....	24
<i>Алексюк М.С., Богоявленский А.П., Зайцева И.А., Алексюк П.Г., Соколова Н.С., Тұрмағамбетова А.С., Березин В.Э.</i> Туынды салицил қышқылдың вирусқа қарсы белсенділіктерін салыстырмалы зерттеу.....	29
<i>Баймаханова Г.Б., Заядан Б.К., Маторин Д.Н., Саганов А.К.</i> Агробиотехнологияда қолдану үшін цианобактериялар негізінде консорциумдар құру.....	35
<i>Блиева Р.К., Сүлейменова Ж.Б., Рахметова Ж.Қ., Нұрлыбаева А.Е., Садуаева Ж.Қ.</i> Пектиныдыратушы ферменттердің продуценті- <i>Aspergillus awamori</i> 1-8/2-ні ұзақ мерзімде дақылдау.....	40
<i>Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Байқышева К., Тұрлыбаева З.Ж., Кошелева Л.А., Қапанова Р.И.</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> 8D бруцеллалардың арақатынасындағы микробтық әрекеттің тетігі.....	45
<i>Дидоренко С.В., Масоничич-Шотунова Р.С., Ли Т.Е., Курбатова Н.В.</i> Құрғақшылыққа тұрақтылығы әртүрлі қытайбұршақтың вегетативті мүшелері құрылымының анатомиялық-морфологиялық ерекшеліктерін айқындау.....	51
<i>Жапарқұлова Н.И., Сейдахметова З.Ж., Қожаниязова У.Н., Ташенова Г.К., Жұмадиллаева Н.Н., Шыныбекова Ш.С.</i> Егеуқұйрықтардың пренатальді гипоксия кезіндегі өмірлік маңызды мүшелеріндегі супероксиддисмутаза белсенділігі.....	59
<i>Малахова Н.П., Жұмагелдинов Б.Қ., Хасейн А., Тезекбаева Б.К., Қалиева А.А., Ахметжанова А.Б.</i> Клеткалық технология негізінде картоптың құрғақшылыққа жоғары төзімді, жаңа перспективті түрлерін алу.....	64
<i>Мамытова Н.С., Богысбаев К.Қ., Фурсов О.В.</i> Бидайдың алейрон қабатындағы α -амилаза секрециясының ерекшеліктері.....	72
<i>Ниязова Р.Е., Берилло О.А., Атамбаева Ш.А., Иващенко А.Т.</i> Өкпенің ұсақжасушалық обырының дамуына қатысатын гендерге талғамды микроРНК-дың қасиеттері.....	78
<i>Сейдахметова З.Ж., Дзоз Л.С., Өтешева Ж.А., Жапарқұлова Н.И., Нұрғалиева А.К., Айхожаева М.Т.</i> Гипотиреоз кезінде туылған жас нәрестелердің иммундық жүйесін бағалау.....	84
<i>Отарбаева А.Ш., Чебоноенко О.В., Тұрсынова А.К., Әмірқұлова А.Ж., Абайлдаев А.О., Малахова Н.П., Хасейн А.</i> Тұз- және құрғақшылыққа төзімді <i>in vitro</i> дақылданған картоп жасушаларының про- және антиоксидантты статусы.....	89
<i>Хакімжанов А.А., Кузовлев В.А., Мамытова Н.С., Фурсов В.</i> Бидай дәніндегі эндогенді α -амилаза ингибиторының кейбір қасиеттері және оны тазалау.....	94
<i>Саганов А.К., Біорысова У.Р., Мұсалдинов Т.Б., Әуезова О.Н., Айткелдиева С.А., Біорысова Д.Ж., Ашықбаев Н.С., Қабденов Ж.М.</i> Мұнаймен ластанған топырақты тазартуда органикалық және минералдық қоспадағы цеолиттің әсерін зерттеу.....	98
<i>Саганов А.К., Біорысова У.Р., Айткелдиева С.А., Мұсалдинов Т.Б., Біорысова Д.Ж., Файзулина Э.Р., Шілманова А.А., Ашықбаев Н.С., Қабденов Ж.М.</i> Цеолитті органоминералды тыңайтқыштың күріш егісі топырағының биологиялық белсенділігіне әсері.....	103

Мерейтойлар

САБАНШИЕВ Мәжит Сабаншыұлы 70 жаста.....	109
--	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Биология и медицина – региону

<i>Абдрасулова Ж.Т., Кужантаева Ж.Ж.</i> Микромитеты, поражающие семена проса и кукурузы.....	3
<i>Аманбаева М.Б., Есенбекова П.А.</i> Материалы к фауне полужесткокрылых (heteroptera) государственного национального природного парка «Алтын-Эмель».....	8
<i>Идрисова Д.Т., Мухамедова Н.С., Жусупова Б.К., Жумадилова Ж.Ш., Шорабаев Е.Ж.</i> Оценка влияния органоминеральных удобрений на загрязненную нефтью почву в полевых условиях.....	11

Теоретические и экспериментальные исследования

<i>Айтенова А.А.</i> Экологические аспекты действия низкочастотного электромагнитного поля на биологические системы растительного.....	17
<i>Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Зайцева И.А., Соколова Н.С., Турмагамбетова А.С., Корулькин Д.Ю., Богоявленский А.П., Березин В.Э.</i> Изучение вирусингибирующей активности гликозидов кемпферола.....	24
<i>Алексюк М.С., Богоявленский А.П., Зайцева И.А., Алексюк П.Г., Соколова Н.С., Турмагамбетова А.С., Березин В.Э.</i> Сравнительное изучение противовирусной активности производных салициловой кислоты.....	29
<i>Баймаханова Г.Б., Заядан Б.К., Маторин Д.Н., Саданов А.К.</i> Создание консорциумов на основе цианобактерий для применения в агробиотехнологии.....	35
<i>Блиева Р.К., Сулейменова Ж.Б., Рахметова Ж.К., Нурлыбаева А.Е., Садуева Ж.К.</i> Длительное культивирование <i>Aspergillus awamori</i> 1-8/2 – продуцента комплекса пектинрасщепляющих ферментов.....	40
<i>Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Баякшиева К., Турлыбаева З.Ж., Кошелева Л.А., Капанова Р.И.</i> Механизм микробного действия <i>Lactobacillus salivarius</i> 8d в отношении бруцелл.....	45
<i>Дидоренко С.В., Масоничич-Шотунова Р.С., Ли Т.Е., Курбатова Н.В.</i> Выявление анатомо-морфологических особенностей строения вегетативных органов сортов сои с разной устойчивостью к засухе.....	51
<i>Жапаркулова Н.И., Сейдахметова З.Ж., Кожаниязова У.Н., Жумадилаева Н.Н., Шыныбекова Ш.С.</i> Активность супероксиддисмутазы в жизненно важных органах крыс с пренатальной гипоксией.....	59
<i>Малахова Н.П., Жумагельдинов Б.К., Хасейн А., Тезекбаева Б.К., Калиева А.А., Ахметжанова А.Б.</i> Получение новых перспективных линий картофеля с повышенной устойчивостью к засухе на основе клеточных технологий.....	64
<i>Мамытова Н.С., Богуснаев К.К., Фурсов О.В.</i> Особенности секреции α -амилазы алейронового слоя пшеницы.....	72
<i>Ниязова Р.Е., Берилло О.А., Атамбаева Ш.А., Иващенко А.Т.</i> Свойства miRNA специфичных для генов участвующих в развитии мелкоклеточного рака легкого.....	78
<i>Niyazova R. Y., Berillo O. A., Atambayeva S. A., Ivashchenko A. T.</i> Properties of micromnas specific for genes involved in development of the small cell lung cancer.....	78
<i>Сейдахметова З.Ж., Дзоз Л.С., Утешева Ж.А., Жапаркулова Н.И., Нургалиева А.К., Айхожаева М.Т.</i> Оценка влияния гипотиреоза на иммунный статус новорожденных.....	84
<i>Утарбаева А.Ш., Чебоненко О.В., Турсунова А.К., Амиркулова А.Ж., Абайлдаев А.О., Малахова Н.П., Хасейн А.</i> Про- и антиоксидантный статус культивируемых <i>in vitro</i> клеток картофеля при селекции на соле- и засухоустойчивость.....	89
<i>Хакимжанов А.А., Кузовлев В.А., Мамытова Н.С., Фурсов О.В.</i> Очистка и некоторые свойства ингибитора эндогенной α -амилазы зерна пшеницы.....	94
<i>Саданов А.К., Идрисова У.Р., Мусалдинов Т.Б., Ауэзова О.Н., Айткельдиева С.А., Идрисова Д.Ж., Ашыкбаев Н.С., Кабденов Ж.М.</i> Изучение влияния цеолита с органическими и минеральными добавками на очистку нефтешагрязненной почвы.....	98
<i>Саданов А.К., Идрисова У.Р., Айткельдиева С.А., Мусалдинов Т.Б., Идрисова Д.Ж., Файзулина Э.Р., Шилманова А.А., Ашыкбаев Н.С., Кабденов Ж.М.</i> Влияние цеолитного органоминерального удобрения на биологическую активность почв под рисом.....	103

Юбилейные даты

САБАНШИЕВУ Мажиту Сабаншиевичу 70 лет.....	109
--	-----

CONTENCS

Biology and medicine – to region

<i>Abdrassulova Zh., Kuzhantayeva Zh.</i> Micromycetes affecting seeds of millet and maize.....	3
<i>Amanbaeva M.B., Esenbekova P.A.</i> Materials to the fauna of hemiptera (heteroptera) of state national park «Altyn-Emel».....	8
<i>Idrisova D.T., Muhamedova N.S., Zhusupova B.K., Zhumadilova Zh.Sh., Shorabaev E.Zh.</i> Assessment of organic fertilizers' influence on oiled soil in fields.....	11

Theoretical and experimental researches

<i>Aitenova A.A.</i> Environmental aspects of the low-frequency electromagnetic field's action on biological systems of plant origin.....	17
<i>Alexyuk M.S., Alexyuk P.G., Zaitseva I.A., Sokolova N.S., Turmagambetova A.S., Korulkin D.Y., Bogoyavlenskiy A.P., Berezin V.E.</i> Study of virus inhibiting activity of kaempferol glycosides.....	24
<i>Alexyuk M.S., Bogoyavlenskiy A.P., Zaitseva I.A., Alexyuk P.G., Sokolova N.S., Turmagambetova A.S., Berezin V.E.</i> Comparative study of antiviral activity of salicylic acid derivatives.....	29
<i>Baimakhanova G.B., Zayadan B.K., Matorin D.N., Sadanov A.K.</i> The creation of consortia on the basis of cyanobacteria for use in agricultural biotechnology.....	35
<i>Bliyeva R.K., Suleimenova Zh.B., Rakhmetova Zh.K., Nurlybaeva A.E., Saduyeva Zh.K.</i> Long-term cultivation of <i>Aspergillus awamori</i> 1-8 / 2 - pectin-degrading enzymes producer.....	40
<i>Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Bayakisheva K., Turlybaeva Z.Zh., Kosheleva L.A., Kapanova R.I.</i> The mechanism of microbial action of <i>Lactobacillus salivarius</i> 8d against brucella.....	45
<i>Didorenko S.V., Massonichich-Shotunova R.S., Lee T.E., Kurbatova N.V.</i> Identification of anatomical and morphological features of vegetative organs' composition with different drought resistant soybean varieties.....	51
<i>Zhaparkulova N.I., Seydakhmetova Z.Zh., Kozhaniyazova U.N., Tashenova G.K., Zhumadillaeva N.N., Shynybekova Sh.S.</i> Superoxidismutaza's activity in bodies of rats with prenatal hypoxia.....	59
<i>Malakhova N.P., Zhumageldinov B.K., Khassein A., Tezekbayeva, B.K. Kalieva A.A., Akhmetzhanova A.B.</i> New perspective lines of potato with increased drought resistance obtained through cell technology.....	64
<i>Mamytova N.S., Boguspayev K.K., Fursov O.V.</i> Features of α -amylase secretion of the wheat aleurone layer.....	72
<i>Seidakhmetova Z.Zh., Dzo L.S., Utesheva Zh.A., Zhaparkulova N.I., Nurgalieva A.K., Aihozhaeva M.T.</i> Assessment of influence of the hypothyroidism on the immune status of newborns.....	84
<i>Utarbayeva A.Sh., Chebonenko O.V., Tursunova A.K., Amirkulova A.Zh., Abayldaev A.O., Malakhova N.P., Khassein A.</i> Pro- and antioxidant status of in vitro cultivated potato cells under selection with salinity and drought tolerance.....	89
<i>Khakimzhanov A.A., Kuzovlev V.A., Mamytova N.S., Fursov O.V.</i> Purification and some properties of endogenous α -amylase inhibitor from wheat grain.....	94
<i>Sadanov A.K., Idrisova U.R., Musaldinov T.B., Auezova O.N., Ayteldieva S.A., Idrisova D.Zh., Ashykbaev N.S., Kabdenov Zh.M.</i> Study of zeolite with organic and mineral supplements for cleaning oil-contaminated soil.....	98
<i>Sadanov A.K., Idrisova U.R., Ayteldieva S.A., Musaldinov T.B., Idrisova D.Zh., Faizulina E.R., Shilmanova A.A., Ashykbaev N.S., Kabdenov Zh.M.</i> Influence of the zeolitic organomineral fertilizers on biological activity of the soil under rice.....	103

Anniversaries

SABANSHIEV Mazhit Sabanshievich – 70 years.....	109
---	-----

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.akademiyanauk.kz

Редакторы: М. С. Ахметова, Ж. М. Нургожина
Верстка на компьютере Д. Н. Калкабековой

Подписано в печать 24.09.2014.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
7,0 п.л. Тираж 300. Заказ 5.