

ISSN 1563-0218 • Индекс 75866; 25866



EXPO 2017
• Future Energy •
Astana Kazakhstan



KazNU Science • КазУУ Фылымы • Наука КазНУ

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ AL-FARABI KAZAKH
ҚАЗАҚ ҮЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ NATIONAL UNIVERSITY

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ

ВЕСТНИК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN

BIOLOGY SERIES

1(70) 2017

МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

1-бөлім Раздел 1

Зоология Зоология

Болекбаева Л.Т.

Көгершіндердің паразитоздарға инновациялық әдіспен зерттеу

Тарасовская Н.Е.

Межвидовые взаимодействия нематод *Rhabdias bufonis* и *Oswaldocruzia filiformis* у остромордой лягушки в припойменных биотопах реки Иртыш

Тарасовская Н.Е.

Влияние межвидовых отношений на численность гельминтов остромордой лягушки

2- бөлім Раздел 2

Өсімдіктер физиология Физиология и биохимия және биохимиясы растений

Колумбаева С.Ж., Каират Б.К., Оразова С.Б., Ловинская А.В., Шалахметова Т.М., Баяшева З.М.

Влияние биологически активных веществ из растений *Limonium gmelinii* (сем. Plumbaginaceae) и *Inula britannica* L. (сем. Compositae) на антиокислительный статус проростков ячменя, подвергнутых действию несимметричного димстилгидразина

3-бөлім Раздел 3

Молекулалық биология Молекулярная биология және генетика и генетика

Байкошқарова С.Б., Сабырбек Ж.Б., Садыbekova Л.С., Махамбетова А.М., Уморбекова Г.А., Курманалиев С.К.

Морфологические характеристики раннего эмбриогенеза триплоидных эмбрионов человека

Байкошқарова С.Б., Сабырбек Ж.Б., Садыbekova Л.С., Махамбетова А.М., Уморбекова Г.А., Курманалиева Н.Г.

Предимплантационная генетическая диагностика триплоидных эмбрионов человека в программах вспомогательных репродуктивных технологий

Калимагамбетов А.М., Исабек А.У., Ракишева З.Б., Бейсембаева Ш.А., Садуева К.А., Валиева М.И., Даuletbaeva С.Б.

Полиморфизм генов тромбофилии системы свертывания крови у женщин с осложнениями беременности казахской этнической группы

Калимагамбетов А.М., Валиева М.И., Исабек А.У., Ракишева З.Б., Бейсембаева Ш.А., Садуева К.А., Даuletbaeva С.Б.

Полиморфизм генов фолатного цикла при осложнениях беременности у женщин казахской этнической группы

Колумбаева С.Ж., Ловинская А.В., Ахтаева Н.З., Литвиненко Ю.А., Воронова Н., Илиясова А.И., Аликул А.

Токсическая и мутагенная активность биологически активных веществ из растений *Inula britannica* L.

семейства Compositae

4-ші бөлім Раздел 4

Микробиология Микробиология

Ақылбаева К.К., Шыныбекова Г.О., Тленчиева Т.М., Садыкалиева С.О., Султанкулова К.Т.

Лабораторная диагностика групп типов А и Б методом ПЦР

Болатхан К., Копески Ж., Жамбакин К.Ж., Лось Д.А., Синетова М.А., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Заядан Б.К.

Шар нүүр көлінен токсин түзүшің цианобактериялардың жана дақылдарын боліп алу және идентификациялау

Шемиура О.Н., Сейтбатталова А.И., Бекмаханова Н.Е., Исмаилова Э.Т., Каптағай Р.Ж.

Компоненты флавоноидной природы растений семейства Lamiaceae Lindl., обладающие фунгицидной активностью в отношении фитопатогенов томатов и сои

УДК 663.1; 582.26

Болатхан К.^{1*}, Копески Ж.², Жамбакин К.Ж.³,
Лось Д.А.⁴, Синетова М.А.⁴, Акмуханова Н.Р.¹,
Садвакасова А.К.¹, Заядан Б.К.¹

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

²Микробиология Институты, Чехия, Требон к.

³Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты,
Казақстан, Алматы қ.

⁴К.А. Тимирязев атындағы Өсімдіктер физиологиясы институты,
Ресей, Мәскеу қ., e-mail: bkenzhegul23@gmail.com

ШАР НУУР КӨЛІНЕН ТОКСИН ТҮЗУШИ ЦИАНОБАКТЕРИЯ- ЛАРДЫҢ ЖАҢА ДАҚЫЛДАРЫН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ИДЕНТИ- ФИКАЦИЯЛАУ

Kіріспе

Замануи ғылым мәліметтері бойынша микроорганизмдердің маңызды топтардың қатарына цианобактериялар жатады. Цианобактериялар табиги биологиялық белсенді оңімдердің бір қатарының тиімді көзі болып табылады. Олардың биотехнологиялық маңызды өнімдерді синтездейтін қасиеті танқалдырады. Цианобактериялардың биологиялық белсенді метаболиттерінекаротиноидтар, пигменттер, аминқышқылдары, фитогормондар, полисахаридтер, май қышқылдары, витаминдер, стеролдар, аллелохимиялық қосылыстар және т.б. жатады. Сонымен қоса, олар энергетикалық қатынаста тиімді, себебі, энергия көзі ретінде күн сәулесін колданады [1].

Цианобактерияларды биотехнологияда, оның ішінде медицинада және ауыл шаруашылығында пайдалану үшін өнімді штамдардың сұрыптау қажет және биомассаның жоғары өнімділігін алу үшін оларды массалық дақылдау технологиясын өндеу керек. Осындай жұмыстар өткен гасырдың 80-ші жылдарынан бастап белсенді түрде жүргізіле бастады. Цианобактерияларды массалық дақылдайтын онтайлы өндірістік орындар және өндеуден бөлек, олардың жоғары өнімді түрлері мен штамдарының осы мақсатта пайдалану ете маңызды болып келеді. Цианобактериялардың жоғары белсенді формаларын селекциялық әдістермен табиғаттан боліп алу жұмыстары үлкен маңызға ие [2].

Цианобактериялар токсиндердің кең спектрін синтездейді, олардың белсенділігінің скринингін есепке ала отырып екі топка болуге болады: биотоксиндер және цитотоксиндер. Биотоксиндерді тестілеу кезінде әдетте су омыртқасыздарын немесе кіпкентай омыртқалыларды, мысалы, тышқандар сияқты жануарларды қолданады. Химиялық құрылымы мен әсерінің бағыттына қарай биотоксиндер екі топка бөлінеді – гепатотоксиндік циклдік пептидтер және нейротоксиндік алкалоидтар. Олардың біріншісін «тез өлім факторлары» деп те атайды, олар лабораториялық жануарлардың (тышқандардың) өлімін 1-4 сағ. ішінде шақырады; екіншілері – «өтө тез өлім факторлары» (2-30 мин. ішінде өледі) [3, 4].

Цитотоксингер жасушалардың жеке қызметтеріне әсер етеді, көбіне ферменттерді тежейді, бірақ көпжасушалы ағзаларды өлтірмейді. Цитотоксингердің белсенділігін сұткоректілердің жасушалар дақылында, жиі ісік жасушаларында зерттейді. Кейбір цитотоксингер балдырлар мен бактерияларды жояды. Иісік жасушалары мен иммунотапшылық вирусын шабуылдайтын түрлері фармакологиялық түрғыда колданылуы мүмкін. Цианобактериялардың синтездейтін өнімдерінің алуан түрлігі мен колдану аясы, оларды биотехнологияның маңызды обьектісі ретінде санауга мүмкіндік береді. Сондыктан әртүрлі табиги экожүйелерден цианобактериялардың жаңа биотехнологиялық болашагы бар дақылдарын бөліп алу өзекті мәселелердің катарына жатады.

Жұмыстың мақсаты – Шар нуур колінен токсин түзуші цианобактериялардың жаңа дақылдарын бөліп алу және идентификациялау.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу жұмысының обьектісі Баян Өлге аймағында орналасқан Шар Нуур колінен бөлініп алғынған цианобактерия дақылдары. Барлығы 6 альгологиялық үлгілер алынды. Таксономиялық құрамын анықтауды әл-Фараби атындағы ҚазҰУ биотехнология кафедрасының фототрофты микроорганизмдер зертханасында жүргізілді. Микробалдырларды анықтауда «Определители синезеленых водорослей СССР» анықтаушылары колданылды [5].

Зерттеу үшін су үлгілері жаз айларында Шар Нуур көлінен алғынды, сутемпературасы +18-20,5°C, pH-6,0 болды. Су үлгілері 2014 жылдың шілде айында, беткі 1-1,5 м теренделіктен альгологиялық сұзғілер комегімен алынды. Жиналған су үлгілері 4% формальдегид ерітіндісінде фиксацияланды. Цианобактериялардың жинақы дақылдарын алу үшін дәстүрлі альгологиялық әдістер колданылды [6]. Бактериологиялық таза цианобактерия дақылдарын бөліп алуда микробиологиялық әдістер колданылды. Цианобактерияларды бактериялар мен санырауқұлактардан тазарту үшін грам оң және грам теріс бактерияларға, кең спектрлі әссер беретін антибиотиктер коспасы алынды [7,8]. Цианобактерияларды залалсыздандын жағдайда 500 мл колбаларда дақылдау жүргізілді. Қоректік ортарақтандырылған Громова №6 колданылды. Цианобактерияларды бөлмсө температурасында, 2000 люкс жарықта дақылдау жүргізілді.

Цианобактерия биомассасының токсиндерін

анықтау үшін LyoQuest (Telstar, Террасса, Испания) лиофилизаторында лиофильді кептірілді. Цианобактериялардың биотоксингердің шаянтәрізді *Daphnia magna* Straus бұтақмұртша тест-объектісіне қыска уақытты тәжірибе қоюмен зерттелді. Биотестілеу үшін 24 сағ. дейінгі жастағы дафнияларды колданылады [9]. Цианобактериялардың лиофилизденген биомассасын (10,0; 1,0 және 0,1 мг/мл) концентрацияда 100 мл ауыз суы бар шыны ыдыстарға құяды. Бақылау ретінде ауыз суы колданылады.

Цитотоксингерді зерттеу Микробиология Институтының (Чехия) фотобиотехнология және микробалдырлар лабораториясында жүргізілді. Цианобактериялардың лиофилизденген биомассасының өлшемінің (200 мг) цитотоксикалық белсенділігін бағалау үшін 6 мл 70 % метанолды біртіндеп қоса отырып, 2-3 минут бойы үгіткіпте ұнтақтайды. Алынған қоспаны 1 сағат болме температурасында ұстайды және 10 минут бойы 4-5 мың айн/мин центрифугалайды. Супернатантты колбага салып, тәжірибе басталғанша тоқазылғышта сақтайды [10].

Цитотоксингерді зерттеу үшін M HeLa жасушалары пайдаланылды. Иісік жасушаларын дақылдау көпшілікке мәлім әдіске сойкес жүргізіледі [11]. Тәжірибе жасау үшін дақыл тығыздыры 5x10⁴ кл/мл әр ойыққа 100 мкл-ден 96-ойықты планшеттерге сегеді. Егілгисиңен кейін 24 сағаттан соң дақылдық ортаны жояды және цианобактериялардың әр түрлі концентрациядағы экстрактілері бар ЕМЕМ (Игла-МЕМ, Германия) ортасымен алмасырады. Экстракті бар клеткаларды инкубациялау 72 сағатқа ішінде жүргізілді.

Молекулалық талдау үшін геномды ДНҚ-ны цианобактерия клеткаларынан ыстық фенол экстракциясы әдісімен бөліп алады. 16SpPHК генин амплификациялау үшін зұбактериалды праймерлерді 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 5'- AAGGAGGTGATCCAGCC -3' колданады. Алынған сапалық және сандық ПТР-өнім Mini Horizontal Electrophoresis system (VWRInternational, АҚШ) камерасын пайдалана отырып, трис-ацетат буфер негізінде 1% агарозалы электрофорезде талданады. Нуклеотидтік бірізділікті дереккорсыз бір ізділікпен (GenBank), BLAST жоғары гомологиялық бірізділікті іздеу бағдарламасының комегімен салыстырады [12].

Токсиндерді HPLC-талдау HP 1100 Mass Spectrometer MSD SL-Ion Trap (Bruker, АҚШ) жоғары тиімді сұйық хроматографияда жүргізілді [13]. Циклдық пептидтерді Zorbax

XDBC8 (4,6×150 мм) аналитикалық бағаналарда беледі. МобиЛЬД фазаны 30 °С-та 1 минут 0,6 мл ағым жылдамдықпен метанол-суда қалдырады (сызықты градиент 30-дан 100% метанолда, 30 мин бойы). Талданатын экстракт көлемі 20 мкл құрады. Бағаналардан пиктердің шығуы кезіндес екі тетіктің көмегімен тіркеледі: «ion-trap» түрінің масс-спектрометрі және ультрафиолетті полихроматикалық детекторы (PDA). Циклдық пептидтер 230 нм хроматографияда анықталады (ұсту уақыты 10-25 мин). Таңдемді масс-спектрометриямен ионизирленген молекулалардың масс-заряды анықталады (MSI). Әдеби мәліметтерді пайдалана отырып, циклдық пептидерге сойкес хроматограммада шығу уақыты бойынша, токсиндердің идентификациясы қосындылардың молекулалық массасын салыстыру арқылы орындалды (масс-заряд).

Зерттеу нәтижелері мен оларды талдау

Соңғы жылдары биотехнологияда колдану мүмкіншіліктеріне байланысты цианобактериялар үлкен қызыгушылық тудырады. Олар көптеген биологиялық белсенді заттар, оның ішінде әртүрлі дәрүмендер мен токсиндерді синтездейді.

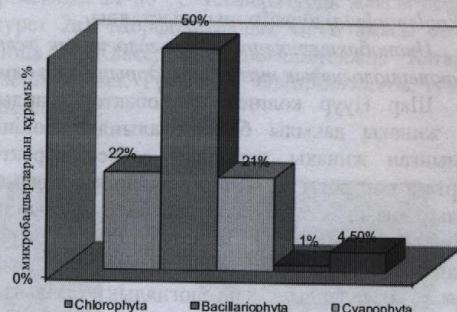
Шар-Нуур көлі Монголияның Баян Өлгей аймагының Буянт ауданында орналасқан көл. Көл суы аптың түздө, сүр жасыл түсті, тұнық. Су температурасы зерттелетін уақытта 18-20,5°C, pH ортасы 6.

Альгофлора құрамын зерттеу нәтижесін бойынша Шар-Нуур көлінде микробалдырлардың 67 түр анықталды. Олар 5 бөлім (Cyanophyta – 14, Dinophyta – 3, Bacillariophyta – 34, Euglenophyta – 1, Chlorophyta – 15), 7 класс, 21 тұқымдас және 34 туыс (сурет 1).

Түрлік құрамы бойынша диатомды балдырлар (Bacillariophyta) жалпы санының 50% алады. Негізгі түрлері екі клас Centrophyceae және Pennatophyceae өкілдері. Centrophyceae туысынан көлде 11 түр 4 туыс анықталды. Олардың көпшілігі тұзды суық суларда кездесетін ағзалар. *Melosira Ag.* туысының үш түрі үш түрі анықталды. Олардың арасында тек *M. moniliformis var. subglobosa* доминантты болды. Қалған екі түрі сирек кездеседі және сандық жағынан айтарлықтай дамуы байқалмады. *Cyclotella Kütz.* және *Stephanodiscus Ehr.* туысының түрлері жалғыз жарым кездесті. Диатомды балдырдан негізгі түрлік байлық Pennatophyceae класына тиесілі, 16 туыстың 34 түрі анықталды. Пеннатты балдырлар негізінен

бентосты балдырлар болғанымен, планктонда әрдайым кездеседі.

Бұл құбылыс жұмысқ тұнбалы және жоғары сатадагы есімдіктерден қопасы бар таяз тоғандарға тән. Көлден бұл кластиң әр үш туысының *Navicula Bory*, *Amphora Ehr.* и *Nitzschia Hass.* төрт түрі анықталды.



1-сурет – Шар-Нуур көлінің альгофлора құрамы

Түрлік алуантүрлік бойынша екінші орында цианобактериялар *Cyanophyta* алады. Бұл болімнен Шар Нуур көлінен екі класқа қарайтын, 6 туыс 14 түр анықталды. *Chroococcophyceae* класынан *Merismopedia (Meyen) Elenk.* және *Gomphosphaeria Kütz.* туыстарынан екі түрден анықталды. Бұл туыстан фитопланктонда *Gomphosphaeria aponina* белсенді дамитыны белгілі болды. Біршама жиі *Merismopedia tenuissima* кездесті. Таксономиялық алуантүрлілік Hormogoniophyceae класының *Oscillatoria* туысына тән болды. Бұл туыстың екілдерінен *Oscillatoria* және *Nodularia* кеңінен таралған.

Динофитті, эвглена және жасыл балдырлар туысының барлығы 5 түр (7,5 %) анықталды. Балдырлардың көн таралуына көрін беретін фактор көлдің тұздылығы мен температурасы болып табылады. Тұздылық бойынша мезогалобтар басымдылық көрсетті (61,2 % барлық анықталған балдырлар құрамынан). Олигогалобтардың 30 түрі мен түр ішілік таксондары анықталды (38,4 %). Бұл топ екі топ астына жіктеледі: индифференттер (19,2 %) и галофилдер (19,2 %). Мезогалобтар мен галофилдердің есебінен көлдің өзіндік бір ерекше альгофлорасы қалыптасқан.

Зерттеу нәтижесі бойынша Шар Нуур көлінде диатомды балдырлар мен цианобактериялардың басқа балдырлармен салыс-

тырганда басымдылығы анықталды. Зерттелген көлдің алъоғлора құрамы алуан түрлілігімен срекшеленіп, барлығы 5 белім, 67 түр анықталды. Оларды проценттік катнасы бойынша ең көп кездесстін диатомоды балдырлар (*Bacillariophyta*) 50%, жасыл балдырлар (*Chlorophyta*) 22%, көкжасыл балдырлар немесе цианобактериялар (*Cyanophyta*) 21%, динофиттер (*Dinophyta*) 4,5%, евгленді балдырлар (*Euglenophyta*) күраітыны анықталды.

Цианобактериялардың алъогологиялық және бактериологиялық таза дақылдарын бөліп алу

Шар Нуур көлінен цианобактериялардың 4 жинақы дақылдар болініп алынды. Болініп алынған жинақы дақылдан сәйкес коректік ортаға көп ретті жүйелі егу әдісінің комегімен алъогологиялық таза дақылдар болініп алынды. Цианобактериялардың монодақылдарын штрих әдісімен егу және микропипетка кемегімен алынды. Дақылдардың алъогологиялық тазалығын микроскоптау арқылы бақылау жүргізілді. Көп ретті егу және нәтижесінде цианобактериялардың 3 алъогологиялық таза дақылдары болініп алынды (кесте 1). Морфологиялық белгілері бойынша болініп алынған цианобактериялардың басым көпшілігі жіпшелі.

1-кесте – Шар Нуур көлінен болініп алынған алъогологиялық таза цианобактериялардың тізімі

№	Атауы	Болініп алынған жер
Дақыл SP-35	Шар Нуур	
Дақыл SP-O	Шар Нуур	
Дақыл SP-O1	Шар Нуур	

Зерттеу жұмысымыздың келесі сатысында алъогологиялық таза дақылдардың бактериологиялық тазалығы тексерілді. Бактериология-

лық талдау бойынша барлық дақылдардан ілеспелі микрофлора анықталды. Цианобактериялардан бөлініп алынған ілеспелі микрофлора негізінен грамм теріс және грамм оң бактериялармен, зең саңырауқұлақтары және ашытқылардан тұрады. Бөлініп алынған цианобактерияларды бактериялардан тазалау өте күрделі үдеріс, себебі, цианобактериялар мен бактериялар арасында тығыз биоценотикалық байланыс қалыптасқан. Цианобактериялар жасушаларының шырыпты қабаттары микроорганизмдер үшін коректік орта мен корганыш болып табылады. Бұндай қауымдастықтарды жеке дақылдарға бөлуде осындағы байланыстар қыншылықтар туындалады.

Цианобактерияларды бактериологиялық тазалау үшін әртүрлі антибиотиктер қолданылды. Төмен концентрацияда антибиотиктерді қолдану барысында ілеспелі микроорганизмдердің, зең саңырауқұлақтарының, ашытқылардың осуі жалғасатыны анықталды. Антибиотикке сезімтал ілеспелі микрофлораны талдау барысында бір бактериялардың бір антибиотикке, ал екінші бактериялардың екінші антибиотикке сезімталдыры анықталды. Сондыктan зерттеуіміздің келесі сатысында грам оң және грам теріс бактерияларға, кең спектрлі әсер беретін антибиотиктер мен саңырауқұлақтарға қарсы антибиотиктер кешені қолданылды. Саңырауқұлақтарға қарсы антибиотик ретінде барлық үлгілерді әсер ету спектрі кең нистатин қолданылды (кесте 2). Антибиотиктер кешенімен цианобактерияларды ілеспелі микрофлорадан тазалау және бактериялардың 3 дақылдары үшін сәтті болды. 2 кестеде болініп алынған цианобактерияларды ілеспелі микрофлорадан тазалауда антибиотиктер кешенінің оптимальды үйлесімі көрсетілген.

2-кесте – Цианобактериялардың дақылдарын кешенді антибиотиктерге осіріп ілеспелі микрофлорадан тазалау

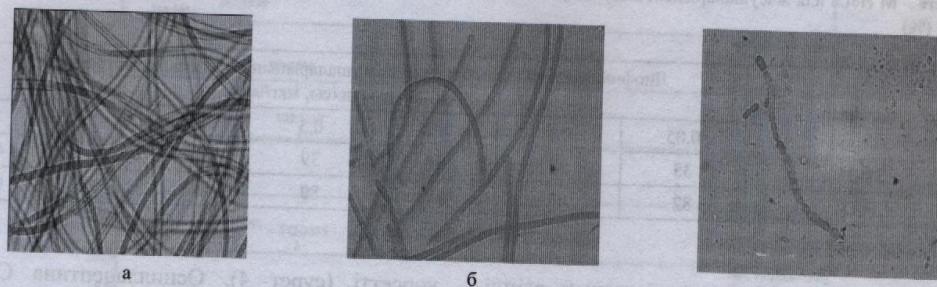
Антибиотиктер кешені 0,1:0,1:0,1:0,1 мг/мл	Цианобактерия дақылдары					
	SP-35		SP-O		SP-O1	
	IM	Ц	IM	Ц	IM	Ц
Гентамицин + пенициллин + тетрациклин + нистатин	-	+	-	+	-	+
Неомицин + ампициллин + хлорамфеникол + нистатин	-	+	-	+	-	+
Канамицин + пенициллин + ванкомицин + нистатин	+	+	-	+	+	+
Пенициллин + гентамицин + канамицин + нистатин	+	+	+	+	-	+

Ескерту: IM – ілеспелі микрофлора, Ц – цианобактерия, – осім жок, + дақыл осімі.

Цианобактериялардың тіршілікке қабілеттілігі – микроскопиялық және дақылды әдістермен бақыланады. Бөлініп алынған 3 цианобактерия дақылдары толық бактериологиялық таза деп анықталды, себебі, дақылдарды 7 таулік бойынша бөлме температурасында ұстай барысында ілеспелі микрофлораның осуі байқалған жоқ.

Бактериологиялық таза дақылдардың морфологиясын зерттеу иттихесі бойынша дақыл SP-O – айқын шырыштық қабы бар жішшелі цианобактерия, трихомалары жалғыз, бір катарапты, түсі қара көк жасыл, жасуша өлшемі 2,2- 2,4-

х4,2-5,9 мкм. Трихомалары салыстырмалы параллельді орналасқан тәж түзді. Шеткі жасушалары аздалашпайды, кейде қалып қабатты. Көбею бір жазықтықта жүреді. Жасушалары тұнбаланбайды, тек шыны бетіне бескініп жогары өседі. Қатты ортада нашар өседі, өсуі тек дақылдаудын 8-10 тәулігінде бақыланады. Штамм автотрофты. Сұйық Громов коректік ортасында 22-30 °C температурда жақсы өседі (сурет 2а). Морфологиялық сипаттамасы бойынша – Класс: *Oscillatoriophycideae* Қатар: *Oscillatoriales*, Тұқымдас: *Oscillatoriaceae*, туыс *Oscillatoria*.



2-сурет – Шар Нуур көлінен болініп алынған цианобактерия дақылдарының морфологиялық көрінісі, а -SP-35, б - SP-O, в -SP-O1 (ұлксайту x90)

Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының токсингілігін тест-объекттер комегімен анықтаяу.

Daphnia magna қолдану арқылы биотестілеу табиги сулардың сапасын анықтауда кең қолданылады [12]. Зерттелетін судың бақылаумен салыстырғанда 24 немесе 48 сағат аралығында 50% және одан жогары дафниялардың өлуі өткір токсингіліктің көрсеткіші болып саналады. Бөлініп алынған цианобактериялардың тест – объектіде биотоксингілігін бағалау тәжірибесі бойынша алғашқы сағат аралығында дақыл SP-O1 дақылдарынан басқа цианобактериялардың лиофилизацияланған биомассасының барлық зерттелген концентрациясында *D. magna* өлімі томен болды. Биомассасын 1-10 мг/мл концентрациясында *D. magna* жылжу белсенделігі айтарлықтай төмендеді. Ол ықтимал токсингіліктердің әсеріне мінез құлықты жауап болуы мүмкін деп түсіндіріледі.

Дақыл SP-O1 дақылын зерттеу кезінде 1 мг/мл биомасса концентрациясында дафниялардың өлімі 24 сағатта 82-83% болды. Ал биомасса концентрациясын 10 мг/мл жоғарлату тест-

объектілердің 24 сағатта 100% өліміне экелді (кесте 3).

Н.С. Строгановтың 4 баллдық токсингілік шкаласы бойынша цианобактерия дақылдары келесідей бағаланады [14]:

4 балл. Өте қатты токсингілі штамдар дақыл SP-O1, ол тест-объектілерді 48 сағатта толық өлтірді.

3 балл. Оргаша токсингілі штамдар дақыл SP-35, оның катысымен 48 сағаттта дафниялардың өлімі 80-84% құрды.

1 балл. Әлсіз токсингілі штамдар: дақыл SP-O1 48 сағаттта дафниялардың өлімі 15 %.

Сонымен бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының *D. magna* тест-объектісіне қатынасы бойынша SP-O1 дақылдарының токсингілігі бар деп анықталды.

Бөлініп алынған цианобактерия штамдарының *M HeLa* ісік жасушаларының негізінде токсингіліктердің әсерін пайдаланып токсингілігін анықтаяу

Өте және оргаша токсингілі деңгеліңдері *M HeLa* ісік жасушаларына эртүрлі цитотоксингіліктердің әсер көрсетті (кесте 4).

3-кесте – Цианобактериялардың лиофилизденген биомассасының әртүрлі концентрациясында (мг/мл) тест-объектінің (Daphnia magna) өлімі, %

Дақылдар	Тестілеу уақыты, сағат														
	1 сағ				6 сағ				24 сағ				48 сағ		
	Цианобактериялардың лиофилизденген биомассасының концентрациясы (мг/мл)														
	Б	0,1	1	10											
SP-35	0	9	15	27	10	21	45	14	47	65	14	54	80		
SP-O1	0	14	30	39	17	36	67	32	83	97	45	98	100		
SP-O	0	0	0	0	0	0	3	0	1	10	0	3	15		

4-кесте – M HeLa ісік жасушаларының жасуша сызығына катынасы бойынша цианобактерия экстрактілерінің цитотоксингілігі (%)

Дақылдар	Лиофилизденген цианобактерия жасушаларының метанольды экстрактісінің концентрациясы, мкг/мл						
	0,05	0,1	0,2	0,5	1	2	5
SP-35	35	37	38	39	42	42	45
SP-O1	82	83	89	89	89	90	97

Дақыл SP – 35 жасушаларының езінділірі барлық зерттелген концентрацияда цитотоксингілігі 50% асқан жоқ (кесте 4). Айтарлықтай әсер жасушалардың жогарғы концентрациясында 5мМ бакыланды (43-45% өлтөн жасушалар).

Ал SP-O1 жасушаларының экстрактілерінің концентрациясын жогарлатқан сайын өздерінің цитотоксингілігін белсенділігін арттыра тусты. Экстрактілердің концентрациясы 5 мМ – де ісік жасушаларының 92-97% өлді. Соньмен зерттеу нәтижесі бойынша бөлініп алынған цианобактерия дақылдары M HeLa ісік жасушаларына катынасы бойынша әртүрлі цитотоксингілікке ие болды. Исік жасушаларын жоғары тәжеуіп қабілетті SP -O1 дақылы 48 сағатта корсетті.

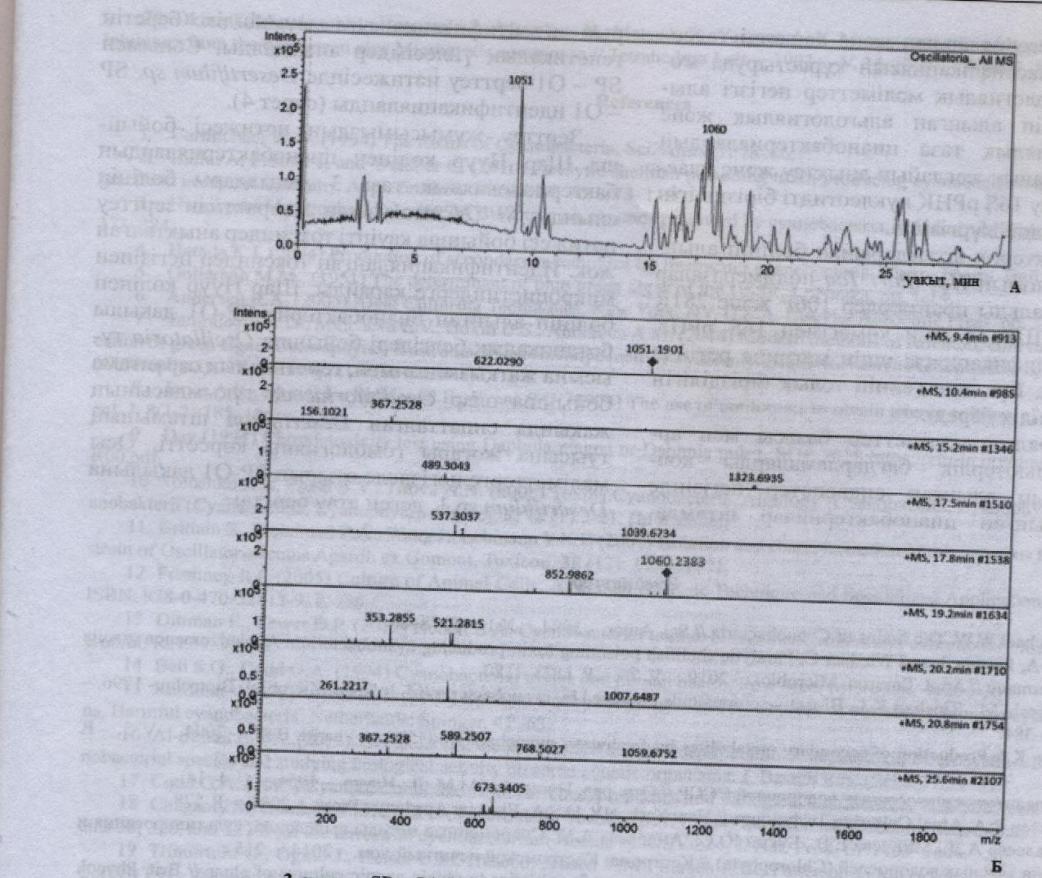
SP – O1 дақылы ондіретін токсиндерді анықтау

Үзак эволюцияның дамуы барысында цианобактериялар әртүрлі экстремальды жағдайларға бейімделу барысында әртүрлі екінші метаболиттерді, оның ішінде биотоксиндер мен цитотоксингіліктердің өндеруга кабілетті болды [15]. Цианобактериялар жасушаларының лиофилизденген экстрактілерінде болатын косылыстарды идентификациялау SP – O1 дақылының экстрактісінде екі циклды депептидтің – микропептин T және осциллапептина C болатынын

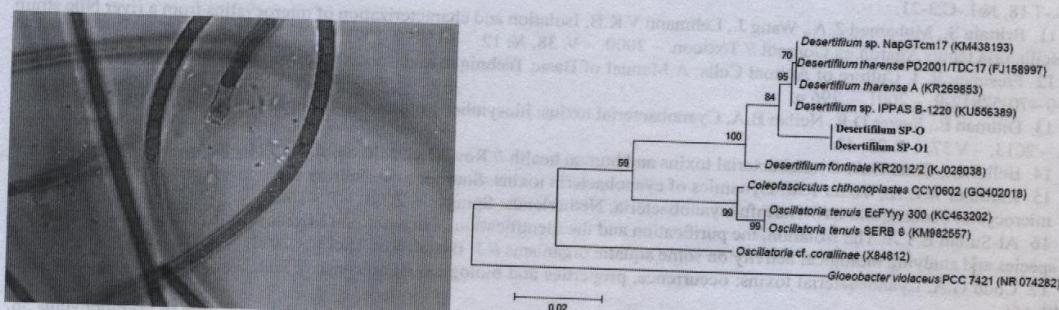
көрсетті (сурет 4). Осциллапептина С мен салыстырғанда микропептин T мөлшері жоғары болды. Бұл молекулалардың биологиялық ролі әлі анықталмаған, бірақ бұл топтың пептидтерінің протеолитикалық белсенділігі жайлы мәліметтер бар [16]. Микропептиндер *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Microcystis*, *Nostoc* және *Oscillatoria* туысына қарайтын цианобактериялардан анықталған [17]. Осциллапептина С массалық заряды 1060 m/z циклды депептидтерге қарайды.

SP – O1 штамм биомассаларының экстрактілерінде анықталған токсиндер циклды депептидтерге жатады. Оларға анабенопептилдіктер, микропептиндер, микроцистидилтер, осциллапептиндер, цианопептолиддер, эргинопептиндер және т.б. қарайды [18]. Циклды депептидтер немесе криптофициндер *Nostocaceae* тұқымдастын алғаш боліп алған күшті ісікке және санырауқұлаққа қарсы депептидтер болып саналады. Топырақ цианобактериялары *Nostoc* sp. бөлініп алынған криптофицин өз атауын патогенді *Cryptosphaeridium* spp. Бактериясын тәжійтін белсенділігіне байланысты алған. Олар қатерлі ісік препараттарының роліне көп үміт күтіретін кандидаттар болып саналады [19,20].

Токсин түзуші цианобактерияны молекулалық генетика әдісімен идентификациялау



3-сүрет – SP – O1 биомассасының лиофилизденген экстрактілерінің HPLC-хроматограммасы (А), және масс-спектрлі сұйық хроматографтағы фрагментация нәтижесі (Б). Сандармен токсиндердің масс зарядтары белгіленген (m/z):
1051 – микропептин T; 1060 – осциллапептин.



4-сүрет – Дақыл *Desertifilum* SP –1 филогенетикалық жағдайы (а) және жасуппа микрофотографиясы (б), (улкейту x 150).

Цианобактериялардың жаңа кешенді таксономиялық класификациясын құрастыруда молекула – биологиялық мәліметтер негізгі алышады. Бөлініп алынған альгологиялық және бактериологиялық таза цианобактериялардың филогенетикалық жағдайын анықтау және класификациялау 16S рРНҚ нуклеотидті бірізділігін талдау негізінде жүргізілді.

Цианобактерия штамдарынан бөлініп алынған ДНҚ геномын *Hot Start Taq*-полимеразалар мен бактериальды праймерлер 106F және 781R қолданып, ПЦР әдісінде көмегімен 16S рРНҚ генінің амплификациясын үшін матрица ретінде қолданылды. Бұл әдіс генінің толық бірізділігін алуға мүмкіндік береді.

Халықаралық мәліметтер базасы мен арналы компьютерлік бағдарламаларды колдана отырып алынған сиквенстер негізінде бөлініп алынған цианобактериялар штамда-

рын идентификациялауға мүмкіндік беретін генетикалық үйлесімдер анықталды. Сонымен SP – O1 зерттеу нәтижесінде *Desertifilum sp.* SP – O1 идентификацияланды (сурет 4).

Зерттеу жұмысымыздың нәтижесі бойынша Шар Нуур көлінен цианобактериялардың бактериологиялық таза 3 дақылдары бөлініп алынды. *SP-O1* штамының экстрактісін зерттеу нәтижесі бойынша қауіпті токсиндер анықталған жоқ. Идентификацияланған токсиндер негізінен микроцистиндерге қарайды. Шар Нуур көлінен бөлініп алынған цианобактерия *SP-O1* дақылы ботаникалық белгілері бойынша *Oscillatoria* туысына жатқызылғанмен, генетикалық саралтама бойынша олар *Oscillatoriaceae* тұқымдасының жақында сипатталған *Desertifilum* штамының туысына жоғары гомологияны көрсетті. Осы мәліметтерге негізделе отырып *SP-O1* дақылнына *Desertifilum sp.1*, деген атап берілді.

Әдебиеттер

- 1 Carmichael W.W. The toxins of Cyanobacteria // Sci. Amer. – 1994. – №1. – P. 78–86.
- 2 Ballot A, Fastner J, and Wiedner C. Paralytic shellfish poisoning toxin-producing cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* in northeast Germany // Appl. Environ. Microbiol. – 2010. – V. 76. – P. 1173–1180.
- 3 Namikoshi M., Rinehart K.L. Bioactive compounds produced by cyanobacteria // J. Industr. Microbiol. Biotechn.- 1996. – V. 17. – P. 373–384.
- 4 Harada K.I. Production of secondary metabolites by freshwater cyanobacteria // Chem. Pharm. Bull. – 2004. – V. 5. – P. 889–899.
- 5 Определитель сине-зеленых водорослей СССР // Отв. ред. Голлербах М.М. Л.: Наука. – 1951. – С. 1–14.
- 6 Andersen R.A. Algal Culturing Techniques // New York, NY, U.S.A. Elsevier Academic Press. – 2005. – P. 578.
- 7 Темрапеева А.Д., Минчева Е.В., Букин Ю.С., Andrews А.М. Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (*Chlorophyta*) // Кострома: Костромской печатный дом. – 2014. – 215 с.
- 8 Jones A.K., Muriel E., Rhodes M.E., Evans S.C. The use of antibiotics to obtain axenic cultures of algae // Brit. Phycol. J. – 1973. – V. 8, №1. – P. 185–196.
- 9 Day Chronicotoxicity test using *Daphnia magna* or *Daphnia pulex* // – 1994. SOP №2028: <https://clu-in.org/download/ert/2028-R00.pdf>.
- 10 Волошко Л.Н., Плющ А.В., Титова Н.Н. Токсины Цианобактерий (*Cyanobacteia*, *Cyanophyta*) // Альгология. – 2008.-T.18, №1.-С.3-21.
- 11 Brittain S., Mohamed Z.A., Wang J., Lehmann V.K.B. Isolation and characterization of microcystins from a river Nile strain of *Oscillatoria tenuis* Agardh ex Gomont // Toxicon. – 2000. – V. 38, № 12. – P. 1759–1771.
- 12 Freshney R. I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, Sixth Edition ISBN: 978-0-470-52812-9. – 2001. – 796 p.
- 13 Dittman E., Fewer D.P., Neilan B.A. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary routes // FEMS Microbiol. Rev. – 2013. – V.37. – P. 23–43.
- 14 Bell S.G., Codd G.A. Cyanobacterial toxins and human health // Rev. Med. Microbiol. – 1994. – № 4. – P. 256–264.
- 15 Kardinal W.E.A., Visser P.M. Dynamics of cyanobacteria toxins. Sources of variability in microcystin concentrations // Harmful cyanobacteria. Netherlands: Springer. – 2005. – P. 41–63.
- 16 Al-Sultan E.Y.A. The Isolation, the purification and the identification of hepatotoxin Microcystin-LR from two cyanobacterial species and studying biological activity on some aquatic organisms // J. Basrah Res. (Sci.). – 2011. – V. 37. – P. 39–57.
- 17 Codd G.A. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance // Wat. Sci. Tech. – 1995. – V. 32. – P.149–156.
- 18 Chaganty S., Golakoti T., Heltzel C., Moore R.E., Yoshida W.Y. Isolation and structure determination of cryptophycins 38, 326, and 327 from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc* sp. GSV 224 // J. Nat. Prod. – 2004. – V. 67. – P.1403–1406.
- 19 Trimurtulu G., Ogino J., Helsel C.E., Husebo, Jensen C.M., Larsen L.K., Patterson G.M.L., Moore R.E., Mooberry S.I., Corbett T.H., Valeriote F.A. Structure determination, conformational analysis, chemical stability studies, and antitumor evaluation of the cryptophycins. Isolation of 18 new analogs from *Nostoc* sp. strain GSV 224 // J. Amer. Chem. Soc. – 1995. – V. 117. – P. 12030–12049.

- 20 Okino T., Murakami M., Haraguchi R., Munekata H., Matsuda H., Yamaguchi K. Micropeptins A and B, plasmin and trypsin inhibitors from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* // Tetrahedron Lett. – 1993. – V. 34, № 50. – P. 8131–8134.

References

- 1 Carmichael W.W. (1994) The toxins of Cyanobacteria, *Sci. Amer.* 1: 78–86.
- 2 Ballot A, Fastner J, and Wiedner C. (2010) Paralytic shellfish poisoning toxin-producing cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* in northeast Germany, *Appl. Environ. Microbiol.* 76:1173–1180.
- 3 Namikoshi M., Rinehart K.L. (1996) Bioactive compounds produced by cyanobacteria, *J. Industr. Microbiol. Biotechnol.* 17: 373–384.
- 4 Harada K.I. (2004) Production of secondary metabolites by freshwater cyanobacteria, *Chem. Pharm. Bull.* 5:889–899.
- 5 Gollerba M.M. (1951) The determinant of blue-green algae of the USSR, L: Nauka, pp. 1-14.
- 6 Andersen R.A. (2005) Algal Culturing Techniques, New York, NY, U.S.A. Elsevier Academic Press. pp. 578.
- 7 Tamraleeva A.D., Mincheva E.V., Bukan U.S., Andreeva A.M. (2014) Modern methods of isolation, cultivation and identification of green algae (Chlorophyta). Kostroma. [Современные методы выделения, культивирования и идентификации зеленых водорослей (Chlorophyta). – Кострома]:215. (In Russian).
- 8 Jones A.K., Muriel E., Rhodes M.E., Evans S.C. (1973) The use of antibiotics to obtain axenic cultures of algae, *Brit. Phycol. J.* 8(1-2):185–196.
- 9 Day (1994) Chronicotoxicity test using *Daphnia magna* or *Daphnia pulex*, SOP, 2028:<https://clu-in.org/download/ert/2028-R00.pdf>.
- 10 Voloshko L.N., Plush A.V., Titova N.N. (2008) Toxins Cyanobacteria. *Algology (Cyanobacteia, Cyanophyta)* [Toksiny Cyanobakterii (Cyanobacteia, Cyanophyta)]. *Algologia* 18 (1):3-21. (In Russian)
- 11 Brittain S., Mohamed Z.A., Wang J., Lehmann V.K.B (2000) Isolation and characterization of microcystins from a river Nile strain of Oscillatoria tenuis Agardh ex Gomont, *Toxicol.* 38 (12): 1759–1771.
- 12 Freshney R.I. (2005) Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, Sixth Edition ISBN: 978-0-470-52812-9. P. 796.
- 13 Dittman E., Fewer D.P. (2013) Neilan B.A. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary routes, *FEMS Microbiol. Rev.* 37: 23–43.
- 14 Bell S.G., Codd G.A. (1994) Cyanobacterial toxins and human health, *Rev. Med. Microbiol.* 4: 256-264.
- 15 Kardinal W.E.A., Visser P.M. (2005) Dynamics of cyanobacteria toxins. Sources of variability in microcystin concentrations, Harmful cyanobacteria. Netherlands: Springer, 41 -63.
- 16 Al-Sultan E.Y.A. (2011) The Isolation, the purification and the identification of hepatotoxin Microcystin-LR from two cyanobacterial species and studying biological activity on some aquatic organisms, *J. Basrah Res. (Sci.)*. 37:39–57.
- 17 Codd G.A. (1995) Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance, *Wat. Sci. Tech.* 32:149–156.
- 18 Chaganty S., Golakoti T., Heltzel C., Moore R.E., Yoshida W.Y. (2004) Isolation and structure determination of cryptophycins 38, 326, and 327 from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc* sp. GSV 224, *J. Nat. Prod.* 67:1403–1406.
- 19 Trimurtulu G., Ogino J., Helsel C.E., Hussebø, Jensen C.M., Larsen L.K., Patterson G.M.L., Moore R.E., Mooberry S.I., Corbett T.H., Valeriote F.A. (1995) Structure determination, conformational analysis, chemical stability studies, and antitumor evaluation of the cryptophycins. Isolation of 18 new analogs from *Nostoc* sp. strain GSV 224, *J. Amer. Chem. Soc.* 117:12030–12049.
- 20 Okino T., Murakami M., Haraguchi R., Munekata H., Matsuda H., Yamaguchi K. (1993) Micropeptins A and B, plasmin and trypsin inhibitors from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Tetrahedron Lett.* 34(50):8131–8134.