

**AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY  
FACULTY OF BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY**



**MATERIALS**  
**of the International scientific and**  
**practical conference**  
**«ASPECTS AND INNOVATIONS OF**  
**ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY**  
**AND BIOENERGY»**

**12-13 February , 2021 y.**





**ЗАЯДАН**  
**Болатхан Қазыханұлы**

Биология ғылымдарының докторы, профессор,  
ҚР ҰҒА-ның академигі, әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің биология және  
биотехнология факультетінің деканы Заядан Болатхан Қазыханұлының  
60 жылдығына арналған

**«ҚОРШАҒАН ОРТА БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ ЖӘНЕ  
БИОЭНЕРГЕТИКАНЫҢ АСПЕКТІЛЕРІ МЕН ИННОВАЦИЯЛАРЫ»**  
атты Халықаралық ғылыми-практикалық конференция материалдарының  
**ЖИНАҒЫ**

12-13 ақпан, 2021 жыл, Алматы, Қазақстан

**СБОРНИК**

материалов Международной научно-практической конференции  
**«АСПЕКТЫ И ИННОВАЦИИ БИОТЕХНОЛОГИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ  
СРЕДЫ И БИОЭНЕРГЕТИКИ»**,

посвященной 60-летию доктора биологических наук, профессора,  
академика Национальной Академии Наук Республики Казахстан, декана  
факультета биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби

Заядан Болатхан Казыхановича

12-13 февраля, 2021 г., Алматы, Казахстан

**COLLECTION**

of the International scientific and practical conference  
**«ASPECTS AND INNOVATIONS OF ENVIRONMENTAL  
BIOTECHNOLOGY AND BIOENERGY»**

devoted to the 60<sup>th</sup> anniversary of the doctor of biological sciences, professor,  
academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan,  
dean of the faculty of Biology and Biotechnology al-Farabi KazNU

Zayadan Bolatkhan Kazykhanuly

12-13 February, 2021 y., Almaty, Kazakhstan

**Организационный комитет:**

Г.М. Мутанов, М.М. Буркитбаев, Т.С. Рамазанов, Ш.Е. Жаманбалаева, А.К. Хикметов, С.К. Мухамбетжанов, Б.К. Заядан, А.С. Кистаубаева, А.К. Бисенбаев, А.А. Жубанова, А.А. Скакова, А.К. Садвакасова, З.А. Инелова, Ф.К. Сарсекеева, М.Х. Нармуратова, М.О. Бауенова, Б.Д. Қосалбаев, Хума Балуч, А.Б. Какимова, Ж.О. Мұстапаева, С.К. Сандыбаева

**Редакционная коллегия:**

Б.К. Заядан, А.С. Бисенбаев, А.А. Кистаубаева, А.К. Садвакасова

Международная научно-практическая конференция «Аспекты и инновации биотехнологии окружающей среды и биоэнергетики», посвященная 60-летию академика Национальной Академии Наук Республики Казахстан, декана факультета биологии и биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби, доктора биологических наук, профессора Заядана Болатхана Казыхановича, 12-13 февраля, 2021 г. – Алматы: Қазақ университеті, 2021. – 295 с.

**ISBN 978-601-04-5210-7**

В сборник вошли научные статьи научных сотрудников НИИ, преподавателей ВУЗов, студентов, магистрантов, докторантов участвовавших в Международной научно-практической конференции «Аспекты и инновации биотехнологии окружающей среды и биоэнергетики» (Казахстан, Алматы, 12-13 февраля, 2021 года).

# **ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ**

УДК 579.64

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УТИЛИЗАЦИИ НИЗКОСОРТНЫХ УГЛЕЙ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ АГРО-МЕЛИОРАНТОВ

А.А. Жубанова<sup>1</sup>, Н.Ш. Акимбеков<sup>1</sup>, И. Дигель<sup>2</sup>, К.Т. Тастамбек<sup>1</sup>, А. Марат<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский Национальный университет имени аль-Фараби, пр. Аль-Фараби 71, Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Аахенский университет прикладных наук, Heinrich-Mussmann-Straße 1, Юлих, Германия

e-mail: azhar\_1941@mail.ru

**Аннотация.** Исследованиями последних лет установлено, что основным сырьем для получения высокоэффективных органических удобрений для фермерского и сельского хозяйства являются окисленные в пластах бурые угли разных угольных бассейнов, а также углесодержащие отходы, образующиеся в процессе угледобычи и обогащения углей. Показано, что окисленные бурые угли содержат широкий набор макро- и микроэлементов, а также большое количество гуминовых и фульвокислот, которые по своему составу близки к почвенным. По сути, они являются кладовой органических веществ и могут быть надежной основой для производства гумуса – высокоэффективного органического удобрения. Между тем, выветренные в пластах и терриконах угли, как бурые, так и каменные, практически не используются в промышленности и народном хозяйстве в качестве топлива или сырья. При добыче угля открытым способом они поступают в отвалы вместе со вскрышными породами. Объем окисленных бурых углей оценивается по каждому месторождению только при детальной разведке и разработке. Так, установлено, что количество окисленных бурых углей Казахских месторождений, поступающих в отвалы, составляет десятки миллионов тонн ежегодно. Эти угли, а также углеотходы, складываются в хвостохранилища, где они выветриваются в условиях атмосферы и на сегодняшний день практически не используются, загрязняя атмосферу и занимая при этом сотни гектаров плодородных земель. В связи с вышесказанным, исследования по разработке технологии получения комплексного удобрения на основе окисленных бурых углей представляют теоретическую и практическую значимость.

**Ключевые слова:** низкосортные угли, окисленные бурые угли, агро-мелиоранты, картофель.

Окисление различных ископаемых углей при их залегании в пластах, т.е. выветривании, происходит в колоссальных масштабах и негативно влияет не только на свойства самих углей, но и на состав и структуру вмещающих пород, способствуя их деградации, концентрации, рассеянию и вторичному переносу элементов в земной коре. Авторами установлено [1], что «в процессе окисления твердых углей кислородом воздуха образуются карбоксильные группы, связанные непосредственно с конденсированными ароматическими кольцами, в отличие от исходного твердого угля, в котором, карбоксильные группы находятся, в основном, при алифатических группировках». В результате окисления происходит ухудшение качественных характеристик ископаемых углей как горючего, при этом в некоторых случаях оно настолько велико, что эти угли не находят даже энерго-топливного использования, вследствие низкой теплоты сгорания и экстремальной раздробленности. Такие угли не учитываются при расчетах экономических прибылей, подсчетах запасов и относятся к так называемым забалансовым углям.

При добыче твердого топлива открытым способом значительная часть его на выходах пластов под наносы не используется в сельском и народном хозяйствах и идет в отвалы в виде терриконов, в связи с чем, возникает необходимость разработки новых способов их использования. Запасы окисленных бурых и каменных углей очень велики и достигают миллиардов тонн. Они разбросаны на больших площадях, что затрудняет их раздельную добычу и переработку.

Окисленные угли после изучения их природы могут быть использованы для производства химического сырья, в том числе, удобрений и для рекультивации загрязненных и нарушенных земель.

На территории Казахстана располагаются такие месторождения бурого угля, как Ой-карагайский бассейн (Алматинская область), Ленгерский бассейн (Туркестанская область) и Кияктинский бассейн (Карагандинская область). Возможность использования окисленных углей для получения удобрений, в том числе, для производства гуминовых препаратов, изучается в разных странах [2-5].

Выветренные и метаморфизированные угли содержат огромное количество гуминовых кислот, которые по своим свойствам и составу близки к гуминовым веществам, содержащимся в агрофонах, т.е. плодородных почвах. Это обстоятельство и явилось определяющей основой для детального изучения возможности получения химическим путем гуминовых кислот (гуматов) для их использования в производстве гумуса – природного удобрения для подкормки овощных культур. В настоящее время публикуется значительное количество работ, в которых показан положительный эффект гуминовых кислот на плодородие почв и урожайность сельскохозяйственных культур [6-8].

Одним из способов использования углеотходов является применение их в качестве удобрений под зерновые культуры и картофель, а также в качестве компонента рекультивационного слоя при восстановлении загрязненных и нарушенных земель. Согласно данным литературы, внесение окисленных углей в качестве мелиоранта значительно повышает урожай семян многолетних трав. Так, например, у некоторых культур вплоть до 2 раз, а урожай семян численно составлял максимум 11,1 ц/га. В последующем, при накоплении органического вещества грунтов, на них возможно возделывание других, более требовательных к почвенному плодородию, культур растений [9]. По некоторым данным [10], бурый уголь и препараты, полученные на его основе, при его процессинге биологически активными веществами, повышают продуктивность сельскохозяйственных культур, не оказывая негативного воздействия на гумусное состояние чернозема, улучшая механическую структуру почв и снабжая ее питательными веществами за счет повышения биомассы и физиологической активности микроорганизмов. Данное исследование свидетельствует, что внесение бурого угля способствует миграции тяжелых металлов в малоподвижные формы, а также уголь способствует связыванию подвижных соединений тяжелых металлов, что может иметь как положительное, так и отрицательное значение, в зависимости от уровня концентрации микроэлементов в почве и их физиологической роли.

Так как низкосортные/низкокачественные угли имеют лигноцеллюлозо-подобную структуру, можно ожидать их высокой трансформации лигнин-трансформирующими микроорганизмами. Большинство исследований продемонстрировали ключевую роль бактерий в процессе биосольюбилизации бурого угля [11].

Изучение процессов биоразложения угля бактериями с помощью современных методов позволит более точно подойти к оценке состояния гуминовых веществ в угле, расширит знания о биосольюбилизации активными штаммами бактерий, поможет в разработке биоудобрений на основе гуминовых кислот из бурого угля и практическом обосновании действия этих препаратов на растения.

По результатам исследования нами были сформированы агро-мелиоранты целевого назначения на основе окисленных бурых углей и штаммов микроорганизмов с целевой метаболической активностью.

Полевые эксперименты показали, что на рост картофеля и урожайность клубней значительное влияние оказали агро-мелиоранты на основе угле-микробного комплекса. Характеристики роста картофеля и количество выращенных клубней в опытных пробах по сравнению с контролем показаны в таблице 1. Добавление агро-мелиоранта приводило к увеличению высоты растений, а также количества стеблей на растении (высота растения

увеличилась на 25,3%, а количество стеблей на растении на 46,1% по сравнению с контролем) (рис.1).



Рисунок 1. Фазы развития картофеля в полевых условиях.

Агро-мелиоранты также существенно повлияли на общее количество клубней, классифицированных по размеру.

Таблица 1. Влияние препаратов на рост картофеля и урожайность клубней

	Высота растений, см	Кол-во стеблей на растение	Количество клубней на растение			
			Мелкий	Средний	Крупный	Всего
Контроль	37.6 ± 0.7 <sup>c,*</sup>	2.6 ± 0.4 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1	1.8 ± 0.4	7.2 ± 0.2 <sup>b</sup>
Агро-мелиорант	47.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.3	4.8 ± 0.2	4.4 ± 0.1	13.7 ± 0.2 <sup>a</sup>

*Примечание.* \*Существенная разница согласно условию рангового критерия Дункана при  $p < 0,05$  обозначена разными буквами (среднее ± стандартное отклонение;  $n = 15$ ).

Наблюдаемое повышение урожайности клубней в ответ на обработки агро-мелиорантами, очевидно, можно объяснить увеличением относительного количества стеблей и клубней. Наши данные о стимулирующих эффектах мелиоранта согласуются с результатами, представленными Z. Ekin [12] и R. Selladurai и др. [13], которые выявили, что обработка углем значительно увеличивает урожайность картофеля по сравнению с контролем как в тепличных, так и в полевых условиях.

Таким образом, наши результаты показали стимулирующее влияние агро-мелиорантов, полученных из угле-микробного консорциума, на рост растений и урожайность клубней картофеля. Данные агро-мелиоранты могут быть использованы для разработки устойчивых сельскохозяйственных технологий и органических удобрений для улучшения агрохимических свойств почв.

#### Литература

- 1 Gokcay C.F., Kolankaya N., Dilek F.B. Microbial solubilization of lignites // Fuel. – 2001. – № 80 (10). – P. 1421-1433.
- 2 Jiang F., Li Z., Lv Z., Gao T., Yang J., Qin Z., Yuan H. The biosolubilization of lignite by *Bacillus* sp. Y7 and characterization of the soluble products // Fuel. – 2013. – № 103. – P.639-645.

3 Derrien M., Lee Y.K., Park J.E., Li.P., Chen M., Lee S.H., Lee S.H., Lee J.B., Hur J. Spectroscopic and molecular characterization of humic substances (HS) from soils and sediments in a watershed: comparative study of HS chemical fractions and the origins // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2017. – № 24 (20). – P.16933-16945.

4 Droussi Z., D'Orazio V., Hafidi M., Ouatmane A. Elemental and spectroscopic characterization of humic-acid-like compounds during composting of olive mill by-products // *J Hazard Mater.* – 2009. – № 163(2-3). – P.1289-1297.

5 Dong L., Yuan Q., Yuan H. Changes of chemical properties of humic acids from crude and fungal transformed lignite // *Fuel.* – 2006. – № 85(17). – P.2402-2407.

6 Просянников В.И. Эффективность применения окисленных углей в качестве удобрения сельскохозяйственных культур в лесостепной зоне кемеровской области: автореф. к. х. н.: 06.01.04. – Барнаул: Кузбассвуиздат, 2007. – 16 с.

7 Crawford D.L., Gupta R.K. Influence of cultural parameters on the depolymerization of a soluble lignite coal polymer by *Pseudomonas cepacia* DLC-07 // *Resources, Conservation and Recycling.* – 1991. – № 5(2). – P. 245-254.

8 Monistrol I.F., Laborda F. Liquefaction and/or solubilization of Spanish coals by newly isolated microorganisms // *Fuel Processing Technology.* – 1994. – № 40(2). – P. 205-216.

9 Engesser K.H., Dohms C., Schmid A. Microbial degradation of model compounds of coal and production of metabolites with potential commercial value // *Fuel Processing Technology.* – 1994. – № 40(2). – P. 217-226.

10 Yao J., Xiao L., Wang L. Separation and analysis of lignite bioconversion products // *International Journal of Mining Science and Technology.* – 2012. – № 22(4). – P. 529-532.

11 Gupta R.K., Deobald L.A., Crawford D.L. Depolymerization and chemical modification of lignite coal by *Pseudomonas cepacia* strain DLC-07 // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 24 (1990) 899–911.

12 Ekin, Z. Integrated Use of Humic Acid and Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Ensure Higher Potato Productivity in Sustainable Agriculture. *Sustainability* 2019, 11, 3417.

13 Selladurai, R.; Purakayastha, T.J. Effect of humic acid multinutrient fertilizers on yield and nutrient use efficiency of potato. *J. Plant Nutr.* 2016, 39, 949–956.

UDC 608.2; 574.22

## VALORIZATION OF BIOMASS WASTE INTO HIGH EFFICIENT MATERIALS FOR AIR PURIFICATION

Z.A.Mansurov<sup>1,2</sup>, P. Lodewyckx<sup>3</sup>, L.F. Velasco<sup>3</sup>, A.R. Kerimkulova<sup>1,2</sup>, S. Azat<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Combustion Problems, 172 Bogenbay batyr str., Almaty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi ave., Almaty, Kazakhstan*

<sup>3</sup>*Department of Chemistry, Royal Military Academy, 30 ave. de la Renaissance, Brussels, Belgium*

<sup>4</sup>*Satbayev University, 22a Satpaev str., Almaty, Kazakhstan*

*e-mail: [zmansurov@kaznu.kz](mailto:zmansurov@kaznu.kz)*

**Abstract.** This article is dedicated to development of the manufacturing method for carbon sorbents used to absorb vapors of organic and inorganic matters. The microstructure analysis of the samples reveals that the activation applied promotes the formation of a higher number of small pores and the development of a spongy texture of the sorbents leading thus to carbon content increase. The activated samples have apparent mesoporosity confirmed by the corresponding isotherms of low-temperature adsorption of nitrogen and the pore size-distribution values obtained by the DFT method. Furthermore, it has been shown that the activation procedure leads to samples with different acidity and this surface property has a great influence on the performance of the materials. The results of a



breakthrough time study for vapors of inorganic and organic substances, indicate that the activation procedure for samples, impregnated by Cu and Ni are most suitable for obtaining a universal sorbent in order to retain a wide range of inorganic vapors.

**Keywords:** sorption materials, nanostructure, toxic gases, adsorption.

### Introduction

Nowadays, cleaning of aspiration and ventilation emissions from harmful substances is one of the main air protection measures for most of industrial enterprises. The specific feature of the most industrial emissions is the content of large number of harmful gaseous components in addition to solid and liquid particles (dusts, gases, mists) [1–2]. Cleaning of gas flows from such contaminants requires corresponding knowledge of theory to develop gas purification methods. Adsorption method becomes more and more valuable among other known methods of industrial emissions cleaning as it allows to remove contaminations from gas flows almost completely [3–5]. The solid materials with extended surface made in form of granules (balls, pills, cylinders, etc.) or fine-grained materials are usually used as adsorbents [6–9].

Depending on their chemical composition there are carbon and mineral adsorbents. Active coals and activated carbon fibers relate to the first group, and silicagels, aluminogels relate to the second group. Adsorption properties and capacity of these adsorbents to regenerate are determined, in general, with chemical condition of their surface and nature of porosity. Highly extended surface is peculiar for highly porous substances, substances with spongy structure or fine-grained ones. Among all adsorbents used in practice the leading role belongs to different active coals (wood coal, bone coal, etc.) [10–14].

### Methods

*Sample Preparation.* As a raw material walnut shell was used. The walnut shell is characterized by a very low content of mineral components, which is a favorable factor for the processing of raw materials into carbon sorbents. Walnut shells are the most promising plant material for activated carbon, which are used in the food industry and medicine. It is characterized by a low content of sulfur, nitrogen and ash, and a high content of carbon [15].

First of all, the walnut shell was crushed. By the sieving method on sieves, a working fraction with a diameter of 2–4 mm was selected from crushing products. This fraction was washed with distilled water several times and dried under a room temperature within 6 h - 12 h.

*The method of obtaining samples.* The chemical activation of the samples was carried out using 70% phosphoric acid. During the heating, phosphoric acid forms a protective film of polyphosphoric acids and phosphorus polyoxides on the surface of particles of wood raw materials, which prevents wood from burning out from the surface without the formation of a developed porous structure of activated carbon. In addition, phosphoric acid is an activating agent as well as atmospheric oxygen and water vapor, which are released during simultaneous carbonization and activation. First of all, the sample was impregnated with 70% phosphoric acid and thermostated at 150 °C for 12 h. 50 g of sample was taken for the experiment. The resulting dark brown mixture was carbonized under isothermal conditions and strict control using a rotating reactor under an inert gas-argon blanket, which was constantly fed at a flow rate of 50 cm<sup>3</sup>/min. The resulting product was subjected to carbonization at 750 ± 50 °C. The rate of temperature increase was set at the «VARTA» temperature controller at 10 degrees per minute. The carbonization time was about 90 min. After carbonization process, it was important to wait until the temperature decreases to 200 °C. A chemically activated sample of walnut shells was washed from the remains of phosphoric acid with distilled water until pH = 7. After this, the resulting sample was placed in a microwave oven at 110 °C to dry for a night. Then granules were made using a screw granulator.

*Studies and measurements of the time of breakthrough in vapors of inorganic substances.* For the experiment, a filter (diameter 43 mm) filled with activated carbon was used, subsequently fixed in a specially designed unit. The installation scheme is shown in Fig. 1.

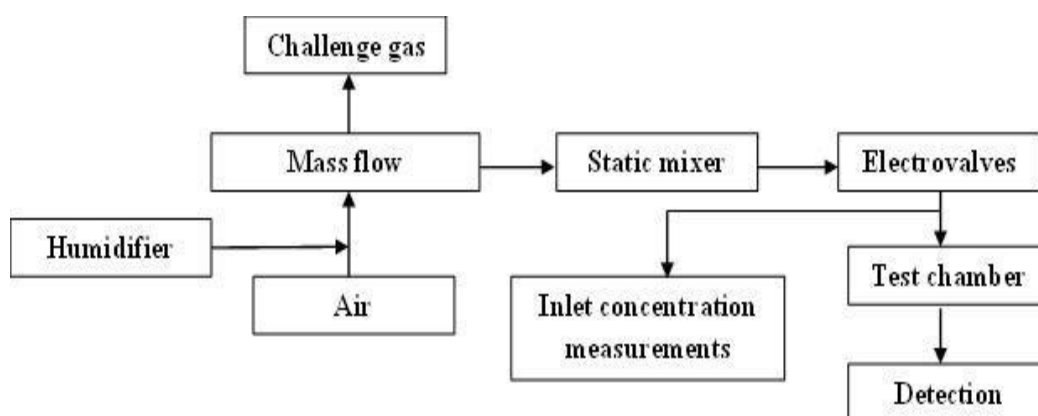


Figure 1. Schematic of the installation used to measure the breakthrough time of organic, inorganic vapors.

### Results and discussion

Raman spectroscopy is a universal method for identification of carbon nanomaterials [16]. There are presented a determining method of graphene layers number according peak intensities  $I_D$ ,  $I_G$  and  $I_{2D}$  and their ratios, respectively. Data for determining of layers number are presented in Table 1.

Table 1. Values of intensity ratio  $I_D$ ,  $I_G$  and  $I_{2D}$  for multilayered graphenes

No	$I_D/I_G$	$I_{2D}/I_G$	Note
1	0.85	0.05	Graphenes are not formed
2	1.5	1	2-layered graphenes
3	1.29	0.55	5-layered graphenes
4	1.16	0.58	4-layered graphenes
5	0.62	0.65	3-layered graphenes

This technique allows to estimate the number of graphene layers, as well as the presence of chemical impurities, and structural defects in graphene (Fig. 2).

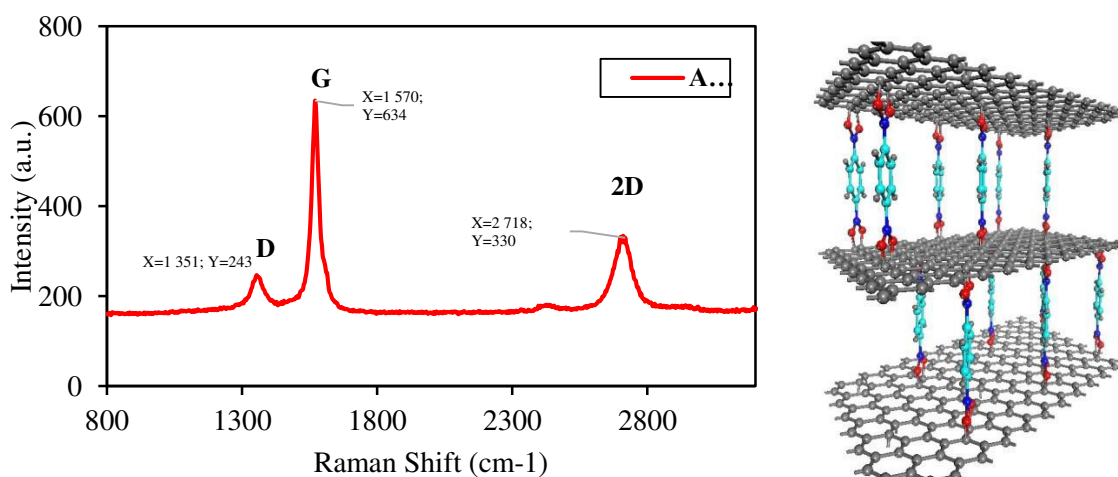


Figure 2. Raman spectra of graphene obtained from walnut-shell (left) and Graphene-oxide framework (right) [17].

The Raman spectra of graphenes obtained from rice husk and greek walnut [17-18] showed that the intensities of G and 2D peaks indicate that graphene film consists of regions with four or more layers. Spectral analysis of graphene obtained from walnut-shell: the intensities of G and 2D peaks

indicate that the film consists of regions with multi-layers. The Raman spectra of distribution 2D indicate that formed structure is largely composed of multilayered graphenes. All spectra contain D, G, and 2D peaks, indicating the presence of deformations in crystalline structure of graphene film, as well as mechanical stresses. A detailed observation of Raman spectroscopy showed that obtained samples from rice husks and walnut shells consisted of graphene layers with amorphous components.

The results of low-temperature nitrogen adsorption indicate the fact that an increase in the amount of activating salt or acid contributes to the development of a porous structure and an increase in the specific surface area of the adsorbents. However, the increased content of the activating agent during the synthesis leads to a decrease in the particle size of the coals, which in most cases makes them unsuitable for further use in air purification processes.

In order to perform the task, carbon samples modified with metal salts were obtained. Modification of the samples was carried out by treatment with a 0.1 M metal solution in an ultrasonic bath for 2 h (Table 2).

Table 2. Specific surface data of samples

№	Samples	Modifier	C, Modifier.	Time sample in an ultrasonic bath, hour	S <sub>BET</sub> , m <sup>2</sup> /g
1	RH+ lignosulfonate	CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0.1M	2	620.0
2	GW1	CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0.1M	2	2308.0
3	GW 2	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *H <sub>2</sub> O	0.1M	2	1719.0
4	GW 3	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *H <sub>2</sub> O	0.1M	2	903.8

Further, the physicochemical characteristics of the prepared modified samples were studied. Investigations were made of the time for the breakthrough in vapors of inorganic substances, such as SO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub>, vapors of organic matter, cyclohexane. The pH of the surface of the samples was also determined. Specific surface area and time of breakthrough in vapors of organic matter cyclohexane (Table 3).

Table 3. Structural parameters obtained from absorption isotherms N<sub>2</sub> of samples 1-5

Sample	S <sub>BET</sub> , m <sup>2</sup> /g	V <sub>t</sub> , cm <sup>3</sup> /g	V <sub>micro DR</sub> , cm <sup>3</sup> /g	V <sub>meso</sub> , cm <sup>3</sup> /g
1(BPL)	864	0.712	0.288	0.424
2(RH+LS)	390	0.316	0.151	0.165
3(GW+CuSO <sub>4</sub> )	1397	0.920	0.441	0.479
4(GW+Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	1591	0.806	0.520	0.286
5(GW+Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	1018	0.892	0.345	0.547

Due to the high specific surface area, impregnated samples 3 and 4 are promising candidates for the absorption of inorganic gases. Moreover, they have different porous networks. Thus, the open bending of the isotherm of sample 4, as well as the flat profile at higher relative pressures, indicate the predominance of wide micropores and narrow micropores (d<sub>p</sub> < 5 nm). However, in the case of sample 3, there are larger mesopores.

The theoretical evaluation of the efficiency of synthesized coals was carried out using the Wheeler-Jonas model [19]. Such calculations were conducted in order to assess the potential using the Wheeler-Jonas model for the same types of coals, but if the experiment parameters are changed.

The Wheeler-Jonas equation used for calculations is given below (Eq. 1):

$$t_b = \frac{W_e \cdot M}{Q \cdot C_{in}} - \frac{\rho_b W_e}{k_v \cdot C_{in}} \cdot \ln \left( \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{out}} \right) \quad (\text{Eq. 1})$$

where  $t_b$  is the jump time required to reach the  $C_{out}$  concentration, min;  $M$  – mass of coal, g;  $W_e$  – equilibrium adsorption capacity, g/g<sub>carbon</sub>;  $Q$  – volume air flow rate, cm<sup>3</sup>/min;  $C_{in}$  – concentration of pollutants in the air, g/cm<sup>3</sup>;  $C_{out}$  – randomly selected maximum allowable concentration of the pollutant at the filter outlet, g/cm<sup>3</sup>;  $\rho_b$  – volume density, g<sub>carbon</sub>/cm<sup>3</sup>,  $k_v$  – coefficient of adsorption rate, min<sup>-1</sup>. Two of the above parameters require additional calculations: the equilibrium adsorption capacity ( $W_e$ ) and the rate coefficient of adsorption-operation ( $k_v$ ). The first of them, the equilibrium adsorption capacity  $W_e$ , determined by the nature of the adsorbate, its concentration, and structural parameters. meters of the coal surface. This parameter is responsible for 80% of the total the filter operation time. To determine this parameter, we used Dubinin-Radushkevich Eq. 2:

$$W_e = W_0 \cdot d_L \cdot \exp \left[ \frac{-BT^2}{\beta^2} \cdot \log^2 \left( \frac{C_s}{C_{in}} \right) \right] \quad (\text{Eq. 2})$$

The second parameter of the Wheeler Jonas equation is kinetic. It depends to a large extent on such parameters of the adsorption process as air flow rate, temperature, as well as on the equilibrium adsorption capacity and size of carbon particles. This parameter was calculated using Lodewyckx-wood Eq. 3:

$$k_v = 800 \cdot \beta^{0.33} \cdot v_L^{0.75} \cdot d_p^{-1.5} \left( \frac{W_e}{M_w} \right)^{0.5} \quad (\text{Eq. 3})$$

Further, a breakthrough analysis of cyclohexane was carried out. For this, the following experimental conditions were chosen: 5000 ppm cyclohexane, air flow 10 L/min, ~ 3% relative humidity, room temperature (~ 22 °C), filter diameter: 4 cm.

Since the retention of cyclohexane is more dependent on the structural properties of the adsorbent, sample 2 (with a very low  $S_{BET}$  value) was excluded from the test.

The experimental time indices and the breakthrough curves are presented in Table 4.

Table 4. Experimental time indices (cyclohexane)

Sample	Time (cons. cyclohexane – 5 ppm)	Time (cons. cyclohexane – 50 ppm)
1(BPL)	32 min 1 s	33 min 38 s
2(RH+LS)	18 min 31 s	21 min 36 s
3(GW+ CuSO <sub>4</sub> )	37 min 28 s	40 min 58 s
4(GW+ Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	47 min 40 s	50 min 55 s
5(GW+ Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	20 min 39 s	23 min 40 s

As indicated above, the absorption of cyclohexane is enhanced by high structural development and a narrow pore distribution. Thus, the breakthrough time of samples 3 and 4 is usually higher than the time of the breakthrough of the BPL. In the case of samples 1 and 5, although they demonstrate  $S_{BET}$  values similar to those of BPL, the presence of wider pores leads to a reduction in breakthrough time.

*Studies and measurements of the time of breakthrough in vapors of inorganic substances.*

Breakthrough tests were conducted using inorganic gases.

For the analysis of the SO<sub>2</sub> slip, the following conditions were chosen: air flow 10 L/min, ~ 3% relative humidity, room temperature (~ 32 °C), 1.77 g/m<sub>3</sub> SO<sub>2</sub> (665 ppm SO<sub>2</sub>), filter diameter: 4 cm, the tested samples: 1, 2, 3, 4 and 5.

The experimental curves and time parameters of the breakthrough are shown in Fig. 3.

Apparently, the chemistry of the surface of the samples plays an important role in the retention of SO<sub>2</sub>. The removal of SO<sub>2</sub> is accelerated by the presence of basic groups. Thus, samples 1, 2 and 3, having an acidic surface, exhibit a very short breakthrough time. In the case of sample 2, and also due to its low structural development, an immediate breakthrough was obtained. In addition, it is important to note that in the case of sample 3, despite its large specific surface area, its highly acidic surface (pH<sub>PZC</sub> = 1.7) results in a short breakthrough time. On the other hand, samples 4 and 5 (with a virtually neutral surface) showed better results. In this connection, of particular interest is sample 4, whose results significantly exceed the indicators of ACR (activated carbon for respirators). Such a result is achieved by appropriate structural and surface properties.

For the NH<sub>3</sub> breakthrough analysis, the following conditions were selected: air flow 10 L/min, ~ 5.5% relative humidity, room temperature (~ 22 °C), 0.46 g/m<sup>3</sup> NH<sub>3</sub> (650 ppm NH<sub>3</sub>), diameter of the filter: 4 cm.

The experimental curves and time parameters of the breakthrough are shown in Fig. 4.

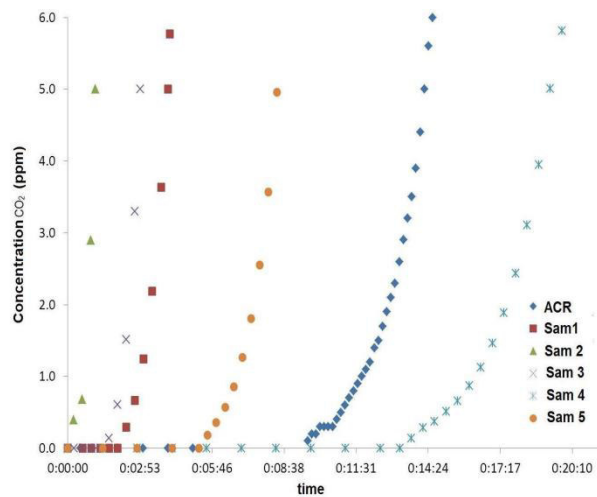


Figure 3. Experimental breakthrough curves (NH<sub>3</sub>).

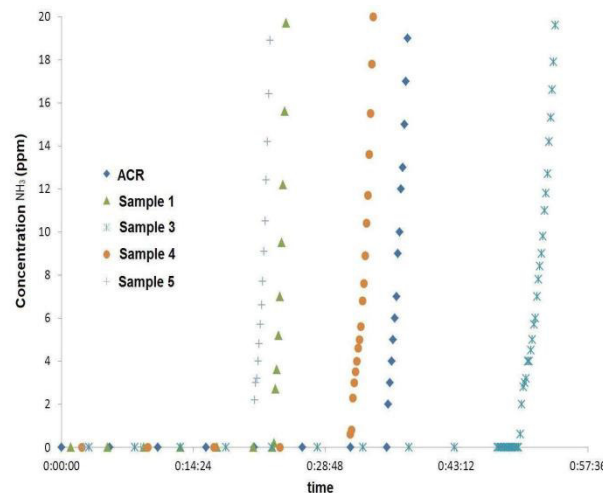


Figure 4. Experimental breakthrough curves (SO<sub>2</sub>).

Difference  $\text{SO}_2$ , the removal of  $\text{NH}_3$  is enhanced by the presence of acidic groups. Thus, the acid surface of sample 3, as well as its high structural development, results in an exceptional absorbent capacity (significantly higher than the commercial universal activated carbon for respirators (ACS)). However, it is also important to note the result of sample 4, which is close to the result of ACR, which indicates the possibility of active use of this material for organic and inorganic substances.

Finally, a test for the ability of samples 3 and 4 to hold a mixture of cyclohexane + 1,2-dichloroethane was carried out (Table 5). Experimental conditions: 5000 ppm. of each component in an air flow of 10 L/min, 3% relative humidity, at room temperature ( $\sim 22^\circ\text{C}$ ).

Table 5. Experimental time parameters of the breakthrough (cyclohexane + 1,2-dichloroethane)

Sample	Time (conc. Cyclohexane + 1,2-dichloroethane 5 ppm)		Time (conc. Cyclohexane + 1,2-dichloroethane 50 ppm)	
	Cyclohexane	1,2-dichloroethane	Cyclohexane	1,2-dichloroethane
3(GW+ $\text{CuSO}_4$ )	19 min 54 s	21 min 12 s	21 min 48 s	23 min 40 s
4(GW+ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ )	25 min 28 s	26 min 14 s	27 min 21 s	28 min 19 s

The activity of the samples with respect to the mixture of organic substances is analogous to the situation with one cyclohexane. Similarly, samples 3 and 4 exhibit a higher retention capacity with respect to the mixture than commercial BPL.

### Conclusion

The microstructure analysis of the samples reveals that the activation applied promotes the formation of a higher number of small pores and the development of a spongy texture of the sorbents leading thus to carbon content increase. The activated samples have apparent mesoporosity confirmed by the corresponding isotherms of low-temperature adsorption of nitrogen and the pore size-distribution values obtained by the DFT method. Furthermore, it has been shown that the activation procedure leads to samples with different acidity and this surface property has a great influence on the performance of the materials.

### Acknowledgements

Here, we are especially grateful to the financial support of the SPS NATO project «Valorization of biomass waste into high efficient materials for CBRN protection» reference G5636, 2019-2021.

### References

- 1 N. N. Zyaykina, A. Buekens. Adsorbents and adsorption processes for pollution control; pollution control technologies- Vol. II. Encyclopedia for life support systems, 2006.
- 2 S. H. Madani, F. Rodríguez-Reinoso, M. J. Biggs, P. Pendleton. Isothermic heats of adsorption of gases and vapors on a microporous carbonaceous material. *Journal of Chemical Engineering Data*, 2018, Vol. 63 (8). pp 3107–3116
- 3 Fletcher, A.J., et al.: Role of surface functional groups in the adsorption kinetics of water vapour on microporous carbons. *J. Phys. Chem. C* 111, 8349–8359 (2007)
- 4 Rutherford, S.W., Coons, J.E.: Equilibrium and kinetics of water adsorption in active carbon molecular sieve: theory and experiment. *Langmuir* 20, 8681–8687 (2004)
- 5 P. Lodewyckx, L. Fernandez-Velasco, and Y. Boutillara, “Estimating the Service Life of Activated Carbon Filters for Air Purification”, *Eurasian Chem. Tech. J.*, vol. 21, no. 3, pp. 193-201, Sep. 2019.
- 6 Almagul R. Kerimkulova. et.al. Granular rice husk-based sorbents for sorption of vapors of organic and inorganic matters. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 54,3,2019, pp.578-584

- 7 S. Sochard, N. Fernandes. Modeling of adsorption isotherm of a binary mixture with real adsorbed solution theory and nonrandom two-liquid model. *AIChE Journal*, 2010, Vol. 56 (12). pp 3109-3119.
- 8 T. Mochizuki, M. Kubota, H. Matsuda, L. F. D'Elia. Adsorption behaviors of ammonia and hydrogen sulfide on activated carbon prepared from petroleum coke by KOH chemical activation. *Fuel Processing Technology*, 2016, Vol. 144. pp 164-169
- 9 A. Heidari, H. Younesi, A. d Rashidi and A. A. Ghoreyshi. Evaluation of CO<sub>2</sub> adsorption with eucalyptus wood based activated carbon modified by ammonia solution through heat treatment. *Chemical engineering journal*, 2014, Vol. 254. pp 503-513.
- 10 Azat, S., et.al. (2019). Extraction of high-purity silica from rice husk via hydrochloric acid leaching treatment. *Turkish Journal of Chemistry*, 43(5), 1258–1269. <https://doi.org/10.3906/kim-1903-53>
- 11 Askaruly, K., et.al. Obtaining and characterization of amorphous silica from rice husk. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 55(1), 88–97. (2020).
- 12 Zhandos Tauanov, et.al. A mini-review on coal fly ash properties, utilization and synthesis of zeolites, *International Journal of Coal Preparation and Utilization*, (2020).
- 13 V.O. Njoku, M. Azharul Islam, M. Asif, B.H. Hameed. Adsorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by mesoporous activated carbon prepared from H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-activated langsat empty fruit bunch. *Journal of Environmental Management*, 2015, Vol. 154. pp 138-144.
- 14 W. Zhang, H. Liu, Q. Xia, Z. Li. Enhancement of dibenzothiophene adsorption on activated carbons by surface modification using low temperature oxygen plasma. *Chemical Engineering Journal*, 2012, Vol. 209. pp 597-600
- 15 Azat S., Rosa Busquets, Pavlenko V.V., Kerimkulova A.R., Raymond L.D., Whitby, Mansurov Z.A. Applications of activated carbon sorbents based on greek walnut. *Applied Mechanics and Materials* vol. 467(2014) pp.49-51.
- 16 Umber Kalsoom, M. Shahid Rafique, Shamaila Shahzadi, Khizra Fatima, Rabia Shaheen. Bi-tri- and few-layer graphene growth by PLD technique using Ni as catalyst // *Materials Science-Poland*. 2017. Vol 35(4). P. 687-693.
- 17 Z.A. Mansurov, M.K. Atamanov, Zh. Elemesova, B.T. Lesbaev, M.N. Chikradze New nanocarbon, energy intensive materials. *Combustion, Explosion, and Shock Waves*, 2019, Vol. 55, No. 4, pp. 402–408.
- 18 M.A. Seitzhanova, D.I. Chenchik, Z.A. Mansurov, R.D. Capua Development of a method of obtaining graphene layers from rice husk // *J. FUNCTIONAL NANOSTRUCTURES PROCEEDINGS*. 2017. Vol. 1(3). P. 6-8.
- 19 L. Jonas, J. Rehrmann, *Carbon* 11 (1973) 59–64.

УДК 579.64

## ДОСТИЖЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В ПРАКТИКЕ СЕГОДНЯ

Саданов А.К.

*ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», г. Алматы, Казахстан  
e-mail: bbbayken@mail.ru*

Институт микробиологии и вирусологии, был организован на базе Сектора микробиологии Института ботаники АН КазССР в соответствии с Постановлением Президиума Академии Наук КазССР № 13 от 30.01.1956 г. В настоящее время правопреемников всех прав и обязанностей является ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии» (далее - Центр) под руководством генерального директора Саданова Аманкелди Курбановича с 2010 года.

До середины девяностых основным направлением Центра являлись фундаментальные исследования в области микробиологии и вирусологии. После получения Казахстаном независимости и постепенным переходом страны на рыночную экономику Центр начал уделять особое внимание прикладным проектам с целью получения отдачи от научных разработок.

Основным предметом деятельности Центра сегодня является проведение научных исследований в области микробиологии и вирусологии, разработка микробных и вирусных препаратов для медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, пищевой промышленности и защиты окружающей среды, подготовка научных кадров.

Работа Центра поставлена так, для реализации полного цикла **«научное исследование – разработка технологии – внедрение в производство – коммерциализация»**. Для его осуществления при Центре создан микробиологический завод «Промышленная микробиология» по выпуску биологических и медицинских препаратов, оснащенный самым современным высокотехнологичным оборудованием. Впервые в республике разработаны технологии и организовано производство новых отечественных биопрепаратов для сельского хозяйства, охраны окружающей среды, медицины и ветеринарии 8 наименований, реализация которых ежегодно составляет 40-50 тонн.

В настоящее время в структуре Центра имеется 7 научных лабораторий, административно-управленческий аппарат, филиал в г.Кызылорда и микробиологический завод «Промышленная микробиология». В штат Центра входят 150 сотрудников, включая 10 докторов наук, 28 кандидата наук, 9 доктора философии (PhD) и 40 магистров. Обучение проходят 14 PhD-докторантов и 3 магистранта. Средний возраст сотрудников составляет 39 лет, 55 специалистов являются молодыми учеными в возрасте до 35 лет. Перспективная молодежь обучается в магистратуре и PhD докторантуре, имеет все условия для творческой работы под руководством опытных наставников. Ежегодно талантливых молодых ученых по инициативе А. К. Саданова поощряют именными премиями (академиком А.Н. Илялетдинова и Х. Ж. Жуматова) за счет внебюджетных средств.

Одним из основных элементов минерального питания сельскохозяйственных культур является азот. Недостаток азота вызывает существенную задержку роста и развития растений, в связи с этим, крупным достижением коллектива микробиологов явились разработка и внедрение биоудобрения «Ризовит-АКС», который накапливает биологический азота клубеньковыми бактериями из атмосферного воздуха в корневой системе. В среднем повышая урожайность кормобобовых культур (на 5-7 ц/га) и плодородие почв за счет накопления биологического азота.

Для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур в почву ежегодно вносится в среднем 100-120 кг/га фосфорных удобрений, из них доступно для растений всего 8-10%, остальная часть этих удобрений накапливается в почве как «мертвый груз» и переходит в недоступную форму, т.е. фосфаты, вносимые в почву в виде минеральных удобрений, усваиваются растениями с очень низкой эффективностью.

В связи с этим, одним из альтернативных путей восстановления плодородия почвам являются биологические методы, с использованием биопрепаратов на основе различных микроорганизмов. В природе только они обладают способностью переводить нерастворимые минеральные соединения в доступную форму для питания растений.

Учеными Центра разработан биопрепарат «Фосфобацирин-АС», который предлагает наиболее выгодное и экологически безопасное повышение усвояемости фосфора за счет фосфатмобилизирующих микроорганизмов, накопленного годами и без дополнительного внесения в почву минерально-фосфорного удобрения. В результате их применения 20-30% труднодоступных форм фосфатов превращаются в доступные растениям соединения фосфора за один вегетационный период повышая урожайность сельскохозяйственных культур.



Использование биопрепаратов «Ризовит-АКС» и «Фосфобацерин-АС» экономически выгодно (в 25 раз дешевле) и полностью заменяют необходимость применения минеральных удобрений.

Одной из традиционных отраслей сельского хозяйства Казахстана является животноводство. Для его устойчивого развития, обеспечения внутренних потребностей в животноводческой продукции и повышения экспортного потенциала, первостепенное значение имеет создание устойчивой кормовой базы.

В производственных условиях при выращивании многолетних кормовых бобовых культур – донника и люцерны существует серьезная проблема низкой всхожести семян из-за твердой оболочки, препятствующей прорастанию всходов. В результате чего крестьянские хозяйства получают низкую урожайность этих культур.

Для решения этого вопроса нами разработан биопрепарат «Фитобацирин». При норме высева семян донника и люцерны 18-20 кг/га, без обработки биопрепаратом всходит только ¼ семян, т.е. прорастают всего лишь 4-5 кг семян, остальная часть погибает. Предпосевная обработка биопрепаратом «Фитобацирин» повышает их всхожесть до 80-90% и снижает расход посевного материала до 10 кг/га. Экономия, только за счет повышения всхожести семян, составляет 12-14 тыс. тенге с одного гектара.

Для укрепления кормовой базы животноводства необходимо заготовка высококачественных силосованных и сенажированных кормов, которые должны занимать основной удельный вес в зимних рационах скота, особенно в тех регионах (Северный и Центральный Казахстан), где зимний период составляет 6-7 месяцев. Для решения данной проблемы организовано производство и реализация новых специализированных бактериальных заквасок «Казбиосил» для консервирования различных кормов. Данный препарат активно используется животноводческими хозяйствами в 11 областях Казахстана, с использованием биоконсервантов заготавливается ежегодно около 1 млн. тонн силоса и сенажа.

Помимо вопроса обеспечения полноценными кормами, еще одной проблемой, наносящей большой ущерб животноводческим хозяйствам и нуждающейся в решении, являются болезни молодняка. В первые две недели жизни, падеж молодняка сельскохозяйственных животных и птиц от смешанных кишечных инфекций достигает 30-40% (из 100 голов 35-40 погибают). Для их профилактики и лечения разработан пробиотик «Полилактовит» на основе молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Действие этого пробиотика обусловлено подавлением роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и стимуляцией иммунной системы животных. Препарат успешно реализуется в 14 областях Казахстана. В результате его применения сохранность приплода составляет 100%.

Еще одним биопрепаратом, для использования в животноводческих хозяйствах является кормовая добавка «Бентобак». Пробиотик на основе пропионовокислых и целлюлозолитических бактерий, улучшает переваривания грубых кормов и оптимизирует процессы обмена веществ у сельскохозяйственных животных и птиц, что приводит к повышению среднесуточного прироста живой массы. «Бентобак» успешно реализуется в 9 областях Республики. В результате применения биопрепарата, в зависимости от рациона и породы животных, среднесуточный привес составляет в среднем 800-1200 г., при уменьшении затрат корма на 5%.

В Республике высокими темпами развивается нефтяная промышленность, проблема загрязнения окружающей среды в местах добычи стоит весьма остро. В связи с этим важной задачей является создание биопрепаратов, способных активно разлагать эти соединения, требующих быстрого и квалифицированного решения, в том числе биологическими методами. Сотрудниками Центра создан высокоэффективный бактериальный препарат серии «Бакойл-КЗ» для микробиологической очистки почвы, водоемов и промышленных стоков от нефтяных

загрязнений. С использованием биопрепарата «Бакойл-KZ» ежегодно очищается 100-150 га. нефтезагрязненного грунта в Западном Казахстане. Препарат дешевле зарубежных аналогов, при этом превосходит их по эффективности.

Фармацевтический рынок – важный сектор экономики любой страны, который служит критерием ее экономического и социального развития, показателем инновационности экономики. Сегодня реальная доля отечественных препаратов на казахстанском рынке составляет лишь около 11%, что почти вдвое ниже уровня, рекомендованного ВОЗ для обеспечения стратегической безопасности страны. При этом, отечественные фармпроизводители выпускают простые лекарственные средства – антисептики и так называемые галеновые препараты (настойки и экстракты из растительного сырья), или препараты - дженерики на основе субстанций, закупаемых за рубежом. Многие отечественные фармкомпании занимаются лишь таблетированием импортных субстанций, так что слово «отечественный» к данным препаратам малоприменимо. Оригинальные отечественные лекарственные препараты практически не производятся.

То, что рынок фармацевтических препаратов в Казахстане почти на 99 % занят импортной продукцией свидетельствует о катастрофической неразвитости отечественного сектора фарминдустрии. А ведь обеспечение страны собственными лекарственными средствами является не только проблемой здравоохранения и экономики, но и вопросом национальной безопасности.

Осуществлены мероприятия, направленные на внедрение в медицинскую практику и организацию производства единственного, отечественного оригинального медицинского препарата «Розеофунгин-АС» - это оригинальный лекарственный препарат широкого спектра действия для лечения поверхностных микозов различной этиологии. Главным преимуществом препарата по сравнению с импортными противогрибковыми средствами является отсутствие к нему устойчивых форм возбудителей, краткий курс и высокая эффективность лечения. В 2017 году препарат "Розеофунгин-АС» включен в Государственный Реестр лекарственных средств Республики Казахстан. В 2018 году препарат «Розеофунгин-АС» вошел в Перечень лекарственных средств Клинического протокола диагностики и лечения дерматофитий МЗ РК на 2019-2023 годы. В 2019 году препарат "Розеофунгин-АС» включен в состав Казахстанского Национального Лекарственного Формуляра (КНФ) В настоящее время активно реализуется через аптечные сети Республики.

На все производимые препараты имеются, патенты РК на штаммы, на препараты, способы производства, товарные знаки, сертификат о происхождении продукции (СТ-KZ) и сертификат соответствия продукции. С 2020 микробиологический завод «Промышленная микробиология» зарегистрирован в реестре отечественных производителей товаров НПП РК «Атамекен» (Индустриальный сертификат № 102 0 00101 - 8 биопрепаратов внесены в реестр).

Сегодня отечественный рынок, практически по всем видам наукоемкой продукции и услуг, занят крупными зарубежными компаниями, что создает тотальную зависимость страны от импорта и представляет угрозу ее национальной безопасности. Вступление Казахстана в Евразийский экономический союз (ЕАЭС) и ВТО еще шире открывает двери для импортной продукции. Результаты деятельности Центра по практической реализации схемы «научная идея – технология – внедрение – коммерциализация» доказывают, что наука Казахстана может быть конкурентоспособной и вносить достойный вклад в развитие экономики страны. Грамотно выстроена работа по коммерциализации результатов научных исследований в связи с потребностями реальной экономики, которая приносит ощутимые плоды и дает уверенность, что отечественная экономика имеет все шансы для дальнейшего развития по инновационному пути.

УДК 632.9

## ПРОБЛЕМА МОНИТОРИНГА РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР В КАЗАХСТАНЕ

Жамбакин К.Ж., Кохметова А.М., Гриценко Д.А., Галиакпаров Н.Н., Дауров Д.Л.,  
Шамекова М.Х.

*Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан  
e-mail: ipbb\_kz@yahoo.com*

**Аннотация.** Болезни сельскохозяйственных культур являются одним из основных факторов, сдерживающих устойчивое развитие растениеводческой продукции в стране. Мониторинг развития болезней, с использованием современных методов, является необходимым и обязательным компонентом сельскохозяйственного производства.

**Ключевые слова:** болезни растений, тест-системы, пшеница, яблоня, виноград, картофель

Проблема развития болезней сельскохозяйственных культур является одной из основных факторов сдерживающих эффективное производство растениеводческой продукции в республике. По данным ФАО ежегодные мировые потери урожая от болезней и вредителей сельскохозяйственных культур выросли с 52,2 млн.т. условных зерновых единиц в 1986-1990 гг. до 75 млн. т. в 2005-2015 гг. Аналогичная тенденция усиления их вредоносности наблюдается и в Казахстане. При этом развитие системы фитосанитарной безопасности в республике не всегда соответствует международным стандартам. В частности, имеет место недостаточный объем мероприятий против особо опасных болезней сельскохозяйственных культур, отсутствие собственных производственных и лабораторных помещений, отсутствие кадрового потенциала и др. Все это приводит к низкой эффективности фитопатологической работы, особенно мониторинга распространенности и вредоносности опасных болезней растений.

В данном докладе мы хотели не только обозначить проблему развития болезней ряда сельскохозяйственных культур в Казахстане, но и предложить пути его решения.

Продовольственная обеспеченность и биобезопасность страны, в первую очередь, определяются количеством зерновых, в частности пшеницы, приходящихся на душу населения. Площадь возделывания этой культуры в Республике составляет 11-12 млн. га, основными районами производства являются Северо-Казахстанская, Костанайская и Акмолинская области, где сосредоточено около 80% основных посевных площадей. Одним из факторов, сдерживающим увеличение производства зерна пшеницы, как для внутреннего пользования, так и для экспорта, являются болезни, вызываемые бактериальными и грибными патогенами. Ежегодно зерновыми культурами засеваются порядка 15,5 млн. гектаров и производится около 17 млн. тонн зерна, из которых примерно 8 млн. тонн вывозится на экспорт. Однако потери урожая пшеницы в республике от болезней в последние годы достигают 25-30%. Потеря урожая – это экономический фактор, и он сильно влияет на устойчивость развития сельскохозяйственного производства.

Одной из основных причин высоких потерь урожая зерна в Казахстане является интенсивное развитие грибных болезней пшеницы. Известно, что под влиянием абиотических и биотических факторов в природе происходят постоянные изменения расового состава возбудителей болезней. Создание новых сортов пшеницы с разнообразием по генам устойчивости к болезни и размещение их на территории распространения болезни является основным способом защиты растений. Ежегодный мониторинг наиболее опасных болезней и анализ структуры популяций патогена позволяет оценить динамику их изменчивости и выявить изоляты с новым спектром вирулентности.

Исследования по мониторингу и изучению структуры популяции ржавчинных грибов сотрудниками института проводились 10 лет назад. Однако в настоящее время расовый состав патогенов значительно изменился, поэтому необходимы новые исследования с использованием современных генетических и молекулярных подходов.

Одна из основных причин недобора урожая пшеницы в Казахстане – болезни с воздушно-капельной инфекцией. Известно, что доминирующее положение в составе патогенного комплекса пшеницы на юге и юго-востоке Казахстана занимают ржавчинные грибы (желтая, стеблевая и бурая ржавчина), а также болезни листовых пятнистостей (пиренофороз и септориоз). Большое распространение среди болезней пшеницы на юге и юго-востоке Казахстана занимает желтая ржавчина пшеницы *Puccinia striiformis* West. Потери зерна от желтой ржавчины пшеницы варьируют от 10 до 70%, в зависимости от восприимчивости сорта, срока развития инфекции, продолжительности и уровня развития болезни. Причиной вредоносности болезни в широком диапазоне климатических зон является высокая вариабельность патогена и его способность к миграции. Вредоносность ржавчины заключается в уменьшении ассимиляционной поверхности, возрастании транспирации, уменьшении накопления органического вещества. В результате образуется щуплое низко-натурное зерно, что отрицательно сказывается на хлебопекарных показателях. Во время эпидемии 2009-2011 гг., большинство казахстанских коммерческих сортов пшеницы, таких, как Стекловидная-24, Прогресс и Жетысу в значительной степени поражалось ржавчиной (до 30-40%). На территории Казахстана патоген встречается почти ежегодно, исключая крайне засушливые годы. Большинство из зарегистрированных в каталоге генов устойчивости к желтой ржавчине становятся неэффективными. Особая опасность болезни обусловлена способностью патогена к мутации и быстрой смене генераций, что ускоряет расообразовательный процесс.

В северном регионе Казахстана в 1990-2017 гг. эпифитотийное развитие бурой ржавчины (*Puccinia recondita* Rob.et Desm f *tritici* Eriks) и септориоза наблюдается почти каждый год. Заболевание встречается на всей территории Казахстана, где возделывают яровую и озимую пшеницу, в т.ч. и в засушливых областях – Кызылординской, Шымкентской, Карагандинской и Семипалатинской.

Пиренофороз пшеницы (Tan spot, TS), возбудителем которого является *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) (PTR), является одной из наиболее вредоносных заболеваний мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*T. turgidum* L. var. *durum*) пшеницы во многих сельскохозяйственных регионах мира, включая Казахстан. Эта болезнь относится к числу наиболее распространенных и совместно с септориозом (*Septoria nodorum* и *Septoria tritici*.) обуславливает потери урожая от 5 до 25%.

Для повышения эффективности селекции на устойчивость к бурой и желтой ржавчине и болезням листовых пятнистостей пшеницы необходимо проводить ежегодный мониторинг развития и распространения болезней для определения уровня опасности возбудителей. Это позволит оценить динамику изменчивости популяции патогенов, определить изоляты с новым спектром вирулентности и выявить перспективный селекционный материал пшеницы, характеризующийся разнообразием по генам устойчивости к болезни, а затем размещать их на территории распространения болезни. Поскольку под влиянием абиотических и биотических факторов в природе происходят постоянные изменения расового состава возбудителей болезней, необходим регулярный мониторинг и анализ структуры популяций патогена. Это позволяет оценить динамику изменчивости расового состава в популяции и определить изоляты с новым спектром вирулентности.

В настоящий момент, вирусы занимают вторую позицию после грибов по степени вредоносности для сельскохозяйственных культур. Экономические потери от вирусов растений по всему миру составляют несколько миллиардов долларов ежегодно. Среди недавно открытых болезней растений, вирусная инфекция составляет 47% случаев. В виду того, что

инфицированные растения вирусами не подлежат лечению химическими веществами, необходимо своевременно обнаруживать пораженные растения и элиминировать из здоровой популяции. Для данных целей необходимо иметь высокоспецифичные системы обнаружения, с помощью которых возможно реализовать качественный и быстрый анализ, как посадочного материала, так и растений в садах, полях или теплицах. Разработанные нами системы обнаружения, основанные на обратной транскрипции совмещенной с ПЦР, позволяют обнаружить наиболее опасные пять вирусов яблони и шесть вирусов винограда. Тест-системы позволяют одновременно определить *Apple stem grooving virus*, *Apple stem pitting virus*, *Apple chlorotic leaf spot virus*, *Apple mosaic virus*, *Tomato ringspot virus* вирусы яблони и *Arabidopsis mosaic virus*, *Grapevine fleck virus*, *Grapevine fanleaf virus-2*, *Grapevine virus A*, *Grapevine leafroll virus -3*, *Grapevine leafroll virus -1* вирусы винограда. Дизайн высокоспецифичных праймеров осуществлялся к регионам геномов вирусов, обладающих высокой консервативностью внутри вида и высокой вариабельностью за пределами вида. Основными перспективными регионами для дизайна праймеров являлись ген, кодирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу и ген, кодирующий капсидный белок. Для каждого вируса разрабатывалось по 3 праймера, один праймер используется для проведения обратной транскрипции с целью повышения чувствительности тест-систем. Системы обнаружения вирусов были апробированы на растительном материале с признаками заражения и на здоровом материале. В комплект тест-системы включен качественный анализ на выделенную тотальную РНК из экспериментального материала, с целью удаления ложно-отрицательных результатов и тем самым повышения качества систем обнаружения. С помощью разработанной системы обнаружения вирусов яблони проводился мониторинг посадочного материала, завезенного из Турции и Италии. В результате анализа было выявлено 60 % посадочного материала, зараженного вирусом *Apple chlorotic leaf spot virus*, 34% *Apple stem pitting virus*, 30% *Apple stem grooving virus* и 2% *Apple mosaic virus*. Тест-системы для обнаружения вирусов яблони и винограда используются для мониторинга заражения садов и виноградников страны. На данный момент, с помощью разработанных тест-систем было проверено свыше 500 образцов яблони и винограда на наличие вирусных патогенов из 10 сельскохозяйственных организаций. Кроме того, разработанные тест-системы запатентованы и могут быть использованы для сертификации посадочного материала, в том числе завезенного из-за рубежа для предотвращения распространения на территории страны опасных и высокопатогенных штаммов.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) считается четвертой по величине в мире основной культурой после риса, пшеницы и кукурузы. Картофелеводство является одним из ключевых отраслей растениеводства, определяющее продовольственную безопасность Казахстана. Республика благодаря природно-климатическим условиям обладает огромными возможностями в производстве картофеля и большим экспортным потенциалом. Производство картофеля в стране с каждым годом растет в основном за счет увеличения площади возделывания. Под картофелем в 2019 году было занято 20,3 тыс. гектара при этом, валовый сбор составил 3912,1 тыс. тонн. Так урожайность в 2019 году в республике составила только лишь 19 тонн с гектара, что является довольно низким показателем. Одним из основных причин недостаточной урожайности картофеля в Казахстане является низкое качество семенного материала, а главным требованием к качественному семенному материалу является отсутствие патогенных и карантинных заболеваний. Для того чтобы снизить распространения болезней картофеля необходимо строго соблюдать севооборот, отдавать предпочтение устойчивым сортам, закупать семенной материал у проверенных семеноводческих хозяйств, а также проводить фитосанитарную экспертизу на наличие различных болезней картофеля.

В настоящее время насчитывается около 40 наиболее распространенных болезней, ежегодные потери урожая от которых составляют от 10 до 70%. Размножение картофеля

клубнями способствует передаче и накоплению из года в год многих фитопатогенных микроорганизмов. Потери картофеля от болезней велики, поскольку он может поражаться ими еще до появления всходов, во время вегетации и в период хранения. Многие возбудители болезней способны также накапливаться и длительно сохраняться в почве.

Основными инфекционными болезнями картофеля являются: грибы, оомицеты, актиномицеты, бактерии, вирусы, виоиды и нематоды. Их отличительным признаком является способность передаваться от одного растения к другому. Наиболее распространенные грибные болезни в Казахстане это фитофтороз и альтернариоз. В Казахстане фитофтороз и альтернариоз картофеля распространены во многих регионах возделывания картофеля. Фитофтороз значительно повреждает культуру в Павлодарской, Карагандинской, Северо-Казахстанской, Акмолинской и Костанайской областях. Альтернариоз наибольший вред причиняет в Алматинской, Жамбылской, Южно-Казахстанской областях, а также в Западном регионе страны.

Ограничивающим фактором устойчивого производства картофеля во многих странах являются вирусные заболевания. В отличие от грибных болезней, визуальная оценка вирусных болезней затруднена. При этом семенной картофель, как правило, свободен от грибных и бактериальных заражений, поскольку размножается *in vitro*. Однако этого нельзя с уверенностью утверждать для вирусных болезней.

Основными вирусными болезнями картофеля в Казахстане являются: вирус картофеля Y (PVY), вирус картофеля X (PVX), вирус картофеля M (PVM), вирус картофеля S (PVS) и вирус скручивания листьев (PLRV). В зависимости от поражения вирусными болезнями урожайность падает до 90% на производственных посевах. В связи с этим, возникает острая необходимость провести масштабный мониторинг вирусных болезней в крупных семеноводческих хозяйствах, которые закупают элитный посадочный материал за рубежом (до 80%) и внутри страны (20%). В институте разрабатываются молекулярные тест-системы на определение вирусов для масштабного мониторинга клубней и возделываемых растений картофеля.

Для решения проблемы развития болезней сельскохозяйственных культур необходимо разработка и внедрение новых биотехнологических подходов на основе ДНК-технологий, с целью эффективной системы мониторинга и предупреждения наиболее опасных болезней сельскохозяйственных культур с учетом генотипического потенциала болезнеустойчивости возделываемых сортов растений и вирулентности патогенов. Для стабилизации фитосанитарного состояния агробиоценозов необходимо использовать комплекс фитопатологических, генетических методов, а также современных биотехнологических и молекулярных разработок, таких как маркерная селекция (Marker Assisted Selection), ПЦР со специфичными праймерами и молекулярные тест-системы для идентификации болезней растений. Разработка и применение новой эффективной системы мониторинга позволит значительно снизить объемы применения пестицидов, улучшить экологическую ситуацию в агроценозах. Кроме того, внедрение биотехнологических и молекулярных методов мониторинга болезней позволит значительно повысить урожайность сельскохозяйственных культур на 20-25%, что будет способствовать решению важных вопросов, связанных с продовольственной безопасностью страны. В конечном счете, необходимо разработать стратегию системы генетической защиты и управления резистентностью сортов, основанной на мониторинге и прогнозировании риска развития и вредоносности болезней, с использованием самых передовых подходов фитопатологии, молекулярной генетики и биотехнологии.

UDC 579.66

## ENGINEERING INDUSTRIAL *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* STRAIN FOR DIRECT FERMENTATION OF CELLULOSE TO BIOETHANOL

Bissenbaev A.K.

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi  
Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan  
e-mail: [Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz](mailto:Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz)

Biofuels are expected to become some of the major sources of renewable energy and mainly include cellulosic ethanol, biodiesel, and biogas. Significant attention has been diverted to ethanol from abundant renewable lignocellulosic feedstocks because of the low cost and good availability of ethanol [1, 2]. However, this is a very costly process owing to the robust and complex structure of lignocelluloses, which requires multi-step operations, including pre-treatment, enzymatic hydrolysis, and fermentation (Fig. 1). Upon hydrolysis, lignocelluloses yield a mixture of monomeric hexoses (glucose and galactose) and pentoses (xylose and arabinose).

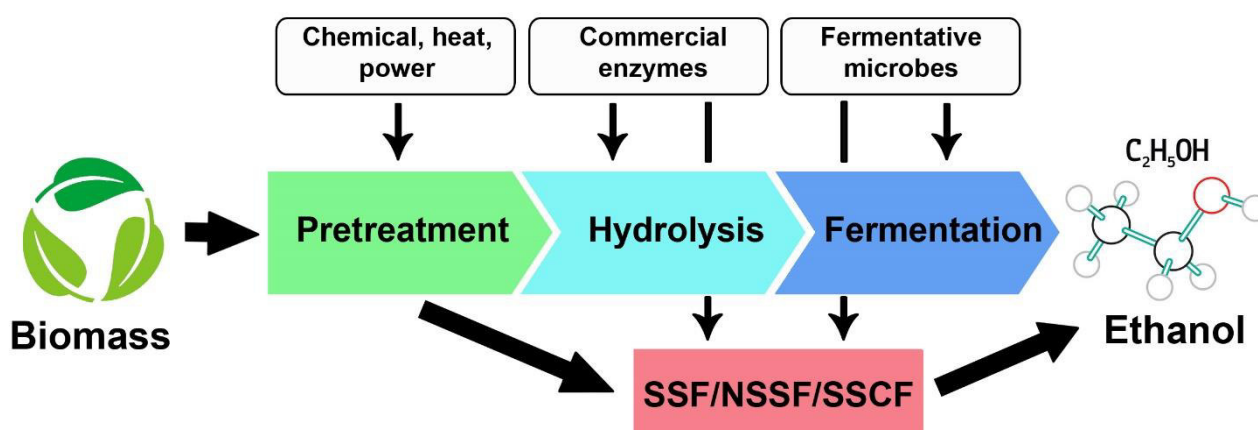


Figure 1. Conventional process of ethanol production from lignocellulosic biomass

Biomass pre-treatment destructs the multi-layered cell walls through strong physical forces (e.g. disc refining, steam explosion) and/or chemical degradation reactions under acidic, alkaline, or solvent conditions [3]. After pretreatment, the lignin barrier is largely removed, and the polysaccharides are sufficiently exposed to digestive enzymes (cellulases and hemicellulases) [4]. The third step involves the fermentation of sugars by microbes via different bioprocesses, such as simultaneous saccharification and fermentation (SSF), separate enzymatic hydrolysis and fermentation (SHF), simultaneous saccharification and co-fermentation (SSCF), non-isothermal saccharification and fermentation (NSSF) [5, 6].

To develop an inexpensive process, a different metabolic engineering strategy have been employed in attempts to enable *S. cerevisiae* to simultaneously ferment all available sugars in biomass hydrolysates. For more efficient conversion of xylose to ethanol, either xylose reductase/xylytol dehydrogenase (XR/XDH) pathway or xylose isomerase (XI) pathway was introduced into *S. cerevisiae* strains together with overexpression of the host-encoded xylulokinase [7, 8]. Conversion of L-arabinose into D-xylulose-5-phosphate is based on heterologous expression of bacterial genes encoding L-arabinose L-arabinose isomerase (AraA), L-ribulokinase (AraB), and L-ribulose-5-phosphate-4-epimerase (AraD). Further improvements alcoholic fermentation of these most abundant pentoses have been obtained through directed-evolution strategies aimed to accumulate spontaneous beneficial mutation [9-11]. A redox engineering study has revealed that deletion of *S. cerevisiae* genes

encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase and expression of an acetylating acetaldehyde dehydrogenase from *E. coli* (A-ALD) allows researchers to achieve conversion of inhibitory acetic acid to ethanol and to eliminate glycerol formation in anaerobic cultures of yeast [12]. Likewise, recombinant cellulases [endo-1,4- $\beta$ -glucanase (ENG), exo-1,4- $\beta$ -glucanase (CBH) and  $\beta$ -glucosidases (BGL)] is expressed as a cell surface displayed or secreted form [12]. In this strategy, the cellulose is hydrolyzed extracellularly and then the glucose is transported into the cell and metabolized. Another strategy involves heterologous expression of a cellodextrin transporter and an intracellular  $\beta$ -glucosidase [13]. The cellodextrin transporter allows cellobiose to enter the cell, where it is hydrolyzed to glucose by the intracellular BGL and metabolized by the cell. However, the ethanol yield is not high enough when using engineered yeast strains and further engineering is required to improve the cellobiose utilization.

One of the main challenges facing industrial bioethanol production from lignocellulose is the large amount of cellulase enzymes required for the hydrolysis of cellulose. The cost of cellulase alone is estimated to be as high as 25–50% of the total ethanol production costs. As a strategy for the dramatic reduction of the enzyme cost associated with cellulosic bioethanol production, a technical consolidation of cellulase production, saccharification, and fermentation using an engineered microorganism in a single reactor has been proposed. CBP developments are classified into two categories: (i) ethanol production by naturally cellulolytic organisms such as *Trichoderma reesei*, *Clostridium* sp., and *Bacillus subtilis*, and (ii) cellulase production by naturally fermentative organisms such as *S. cerevisiae*, *Pichia stipitis*, and *Kluyveromyces marxianus*. Because of the difficulty of introducing the ethanol fermentation pathway into cellulolytic organisms, most of the CBP developments proposed thus far have focused on the latter category. In general, three kinds of enzymes are needed to degrade cellulose: endoglucanase (EC 3.2.1.4; EGL),  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21; BGL), and cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91; CBH). There are two major CBH classes: those of the glycosyl hydrolase families GH7 (also called CBH1) and GH6 (CBH2) [12]. Both classes of CBHs are used together because they synergistically act in cellulose hydrolysis.

For bioethanol production, tolerance to variations in osmotic stress, product inhibition such as ethanol, variation in growth temperature, and presence of toxic compounds are important factors to consider for CBP [14]. Unlike the laboratory *S. cerevisiae* strains, industrial strains are adapted to overcome a variety of environmental stresses [14]. In our study, ATCC 24860, Y-1528, Y-2034 and YB-2625 industrial *S. cerevisiae* strains (ARS Culture Collection at the National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, USA) screened for resistance to several, widespread stress factors by spot dilution growth assay: high temperature, high concentration of ethanol, and various concentrations of KCl, acetic acid, furfural, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. All the yeast strains manifested high resistance to osmo-stress, to varying concentrations of ethanol and furfural, and to high temperatures. It is worth noting that Y-2034 and YB-2625 yeast strains showed excellent ethanol (up to 16%) and acetic acid (up to 5 g/L) tolerance as compared with the other strains. Further, Y-2034 strain was chosen for engineering a single yeast strain to produce all cellulases, including gene of cellodextrin transporters (CDT-1). First, by means of gene engineering approaches the  $\delta$ -TEF-ble-GAPDH- $\alpha$ -eng1-GAPDH- $\alpha$ -HA- $\alpha$ -cel6B-GAPDH- $\alpha$ -c-Myc-cel7A- $\delta$  integral cassette was constructed, including genes of endo- $\beta$ -1,4-glucanase (*A. niger*), exo-1, 4- $\beta$ -glucanase (*L. edodes*, GH7), exo-1, 4- $\beta$ -glucosidase (*L. edodes*, GH6) and phleomycin resistance marker gene (ble). To secrete heterologous cellulases in yeast, the signal peptide of *S. cerevisiae* mating factor alpha (MF $\alpha$ ) was used. Of note that the long terminal repeats of the Ty element, known as  $\delta$  sequences, are good targets for integration by homologous recombination, as there are about 425 copies throughout the yeast genome [15]. Selection of the yeast transformants was performed using YPD agar medium containing the antibiotic phleomycin at a final concentration of 10  $\mu$ g/ml. The presence of the integrated genes in the yeast chromosome were verified using PCR. As a result, recombinant Y-2034 yeast strains with various genes were constructed. Then, we constructed the integral pHO-TEF1-bgl1-PGK1-cdt1-KanMX4-HO vector containing the sequences encoding the hybrid proteins 3xFlag•BGLI and CDT1•GFP, with the



KanMX4 resistance gene and *HO* loci for integration into the genome of the yeast cell. The *HO* gene encodes an endonuclease responsible for initiating mating type switching and initiation of diploidization of heterothallic yeast [16]. It was shown that deletion of *HO* locus does not affect the growth of yeast and nearly more part of industrial and laboratory strains of *S. cerevisiae* have a mutation at the *HO* locus [17-19]. Thus, deleting the *HO* gene (by replacing with expression cassette) in diploid industrial *S. cerevisiae* strains makes it possible to generate a cellobiose-fermenting haploid strains with stable mating-type, making them amendable for further genetic manipulations. As results, we have engineered an industrial *S. cerevisiae* strain co-expressing gene for cellulases and the cellodextrin transporter for the purpose of improving the efficiency of direct ethanol fermentation from cellulosic substrates (Fig. 2). It should be stressed that cellobiose is not catabolized by *S. cerevisiae* and is not accumulated in the cytoplasm, expression of a functional cellodextrin transporter gene from *N. crassa* and intracellular *T. aurantiacus* BGLI endow *S. cerevisiae* with ability to grow with cellobiose as the sole carbon source. In addition, in this strain, glucose will not accumulate in the fermentation medium, which is advantageous to prevent or minimize contamination by other microorganisms. This advantage would be especially useful for long-term, large-scale industrial applications.

The characteristics of the strains expressing cellulase genes were investigated under anaerobic growth conditions with cellobiose as the sole carbon source. Recombinant strain was able to grow and produce ethanol from cellobiose as the sole carbon source. Recombinant yeast strain showed faster growth, as indicated by the maximum specific growth rates, to eventually reach similar ODs in the stationary phase. This strain consumed 90% cellobiose within 48 h. The maximum ethanol production for this strain coincided with the level of consumption of the substrate. Ethanol yields was 0.43, which correspond to 79.9% of the theoretical ethanol yield (0.538 [g ethanol]/[g sugar consumed]).

The engineered recombinant strain produced  $22.4 \pm 1.7$  g/L ethanol from 60 g/L Avicel. The resulting yield was about 0.39 gETOH/gGluc eq, which is 75% of the maximum theoretical yield. The ethanol yield from wheat straw pretreated by 4% NaOH at 121°C was  $5.43 \pm 0.1$  g/L, which is still so far from the critical threshold (~40 g/L of ethanol). To increase ethanol yield improvements of pretreatment technology to make cellulose more accessible to enzymatic hydrolysis need. It is well known that the dominant hemicellulose polymer in wheat straw is xylan consisting of D-xylose backbone with different side groups including L-arabinose, D-galactose, acetyl, feruloyl, p-coumaroyl and glucuronic acid residues [20].

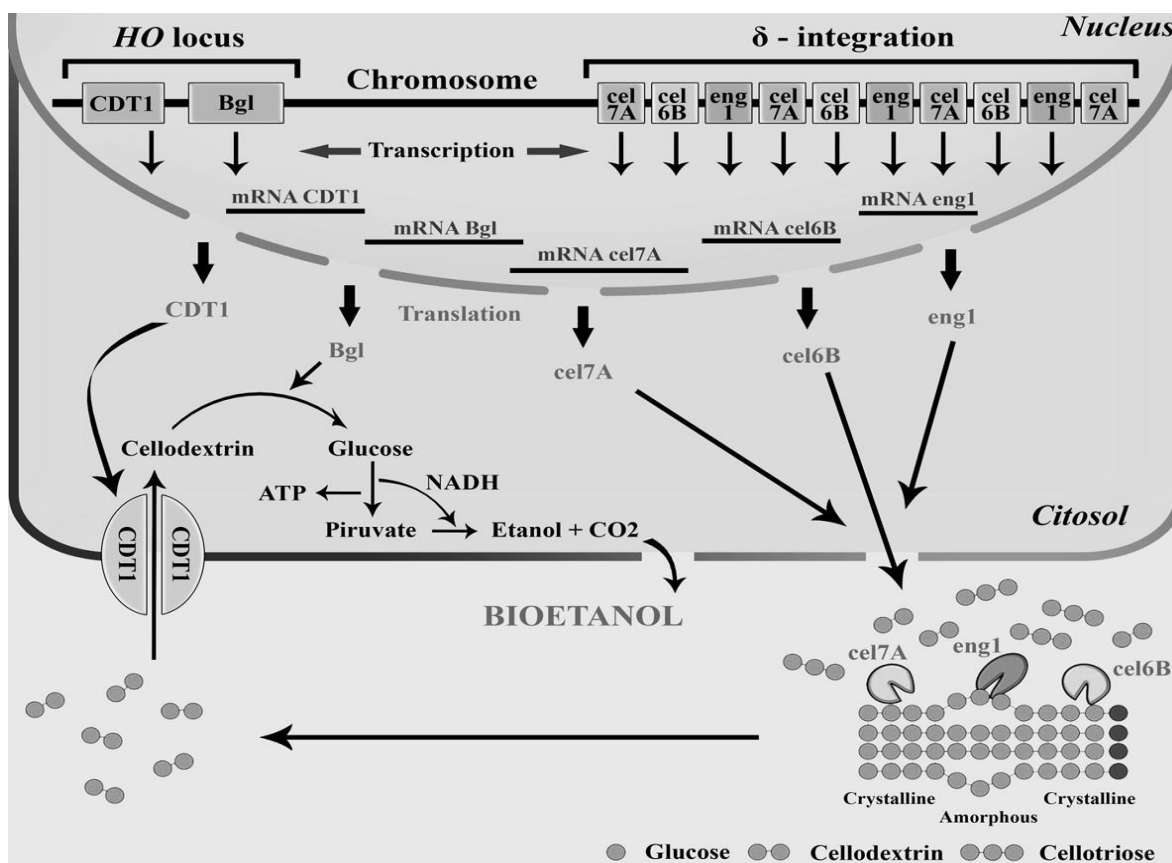


Figure 2. Schematic representation of engineered recombinant strain

Accordingly, construction of *S. cerevisiae* strains capable of an efficient xylose, arabinose and galactose consumption and tolerant toward lignocellulose-derived inhibitors would allow a real valorization of the hemicellulosic fraction, also can make an actual difference in terms of ethanol titers.

### References

1. Demirbas A. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections // *Energy Conversion and Management*. – 2008. – No. 49. – P.2106–2116.
2. Jegathese S.J.P., Farid M. Microalgae as a renewable source of energy: a niche opportunity // *J Renew Energy*. – 2014. – No. 2014. – P.10.
3. Da Silva A.R.G., Ortega C.E.T., Rong B.G. Techno-economic analysis of different pretreatment processes for lignocellulosic-based bioethanol production // *Bioresour Technol*. – 2016. – No. 218. – P.561–570.
4. Liu H., Sun J., Leu S.Y., et al. Toward a fundamental understanding of cellulase-lignin interactions in the whole slurry enzymatic saccharification process // *Biofuel Bioprod Bioref*. – 2016. – No. 10. – P.648–663.
5. Sebayang A.H., Masjuki H.H., Ong H.C., et al. A perspective on bioethanol production from biomass as alternative fuel for spark ignition engine // *RSC Adv*. 2016. – No. 6. – P.4964–14992.
6. Zbed H., Sahu J., Boyce A., et al. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: an overview on feedstocks and technological approaches // *Renew Sust Energ Rev*. – 2016. – No. 66. – P.751–774.
7. Jansen M.L.A., Bracher J.M., Papapetridis I., et al. *Saccharomyces cerevisiae* strains for second-generation ethanol production: from academic exploration to industrial implementation // *FEMS Yeast Res*. – 2017. – No. 17. – P.fox044.

8. Hahn-Hagerdal B., Karhumaa K., Jeppsson M., Gorwa-Grauslund M.F. Metabolic engineering for pentose utilization in *Saccharomyces cerevisiae* // Adv Biochem Eng Biotechnol. – 2007. – No. 108. – P.147-177.
9. Xiong M., Chen G., Barford J. Alteration of xylose reductase coenzyme preference to improve ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* from high xylose concentrations // Bioresour Technol. – 2011. – No. 102. – P.9206–9215.
10. Ma T.Y., Lin T.H., Hsu T.C., et al. An improved method of xylose utilization by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* // J Ind Microbiol Biotechnol. – 2012. – No. 39. – P.1477–1486.
11. Diao L., Liu Y., Qian F., et al. Construction of fast xylose-fermenting yeast based on industrial ethanol-producing diploid *Saccharomyces cerevisiae* by rational design and adaptive evolution // BMC Biotechnol. – 2013. – No.13. – P.110.
12. Kricka W., Fitzpatrick J., Bond U. Metabolic engineering of yeasts by heterologous enzyme production for degradation of cellulose and hemicellulose from biomass: a perspective // Front Microbiol. – 2014. – No. 5. – P.174.
13. Shen Y., Zhang Y., Ma T., Simultaneous saccharification and fermentation of acid-pretreated corncobs with a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing  $\beta$ -glucosidase // Bioresour Technol. – 2008. – No. 99. – P.5099–5103.
14. Smekenov I., Baktambayeva M., Bissenbayev K., et al. Heterologous secretory expression of  $\beta$ -glucosidase from *Thermoascus aurantiacus* in industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains // Braz J Microbiol. – 2020. – No. 51. – P.107–123. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00192-1>
15. Sakai A., Shimizu Y., Hishinuma F. Integration of heterologous genes into chromosome of *Saccharomyces cerevisiae* using a delta sequence of yeast retrotransposon Ty // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1990. – No. 3. – P.302-306.
16. Bakhrat A., Jurica M.S., Stoddard B.L., Raveh, D. Homology modeling and mutational analysis of HO endonuclease of yeast // Genetics. 2004. – No. 166. – P. 721-728.
17. Hector R.E., Dien B.S., Cotta M.A., Qureshi N. Engineering industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains for xylose fermentation and comparison for switchgrass conversion // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – No. 38. – P.1193-1202.
18. Baganz F., Hayes A., Marren D., et al. Suitability of replacement markers for functional analysis studies in *Saccharomyces cerevisiae* // Yeast. – 1997. – No. 13. – P.1563-1573.
19. Walker M.E., Gardner J.M., Vystavelova A., et al. Application of the re-useable, KanMX selectable marker to industrial yeast: construction and evaluation of heterothallic wine strains of *Saccharomyces cerevisiae*, possessing minimal foreign DNA sequences // FEMS Yeast Res. – 2003. – No. 4. – P.339-347.
20. Mazeau K., Moine C., Krausz P., Gloaguen V. Conformational analysis of xylan chains // Carbohydrate Research. – 2005. – No. 340. – P.2752–2760.

УДК 581.52

**ИЗУЧЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ  
A.FERROOXIDANS И A.CALDULANS ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОМ ПЕРЕСЕВЕ**

А.Т. Канаев, З.К.Канаева, Т.А.Диппель, А.Т. Смағали, А.Р. Ринар

Научно-исследовательский институт проблем биотехнологии НАО Жетысуский университета им.

И.Жансугурова, г. Талдыкорган, Республика Казахстан

e-mail: ashim1959@mail.ru

**Аннотация.** Для начала исследований культуры *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* относительно, длительное время (5 месяцев) поддерживались в холодильнике лабораторных

условиях, поэтому считалось необходимым изучить их основные признаки: характер роста и окислительную способность на жидкой питательной среде Сильвермана и Лундгрена 9 К.

**Ключевые слова.** Культуры *A.ferrooxidans* и *A.caldulans*, среда Сильвермана и Лундгрена.

В качестве объекта исследования служили два штамма ацидофильных хемолитотрофных бактерий: *A.ferrooxidans* и *A.caldulans*.

Окислительная способность исходных штаммов, выращиваемых на среде 9К Сильвермана и Лундгрена, определялась ежесуточно комплексометрически в процессе роста культур [1,2]. В этих экспериментах исходное содержание закисного железа составило 5,0 г/л. Полученные данные приведены на рис. 1.

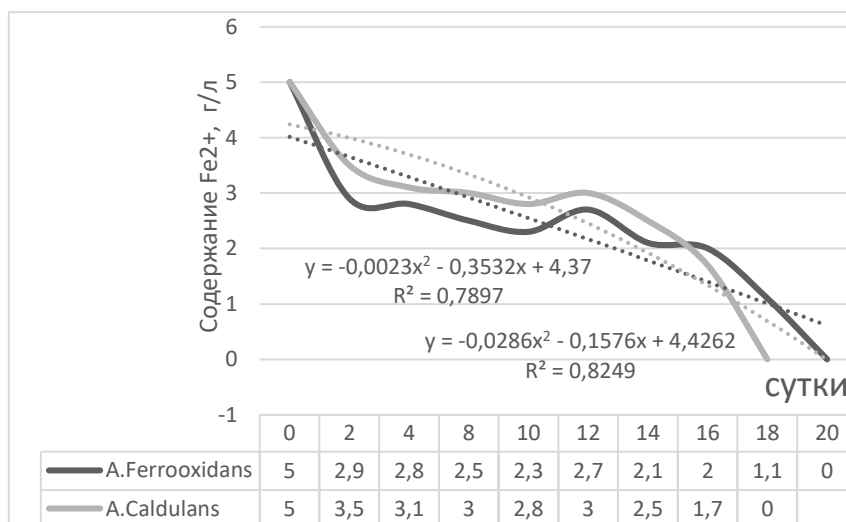


Рисунок 1. Сравнительная характеристика окислительной способности исходных штаммов *A.ferrooxidans* и *A.caldulans*.

Как видно из рисунка, окисление двухвалентного железа осуществлялось медленно в первые 10-12 суток. В отрезок времени на вторые сутки наиболее активно окисление закисного железа осуществлялось с двумя штаммами, наименьшая активность проявлялась от двух до 12 суток. Однако, после 12 суток картина изменилась. Активность *A.caldulans* начала возрастать и после 14 суток она стала опережать штамм *A.ferrooxidans*. В итоге окисление закисного железа завершилось на 18 сутки. У штамма *A.ferrooxidans* активность, наоборот, начала падать. Более медленное использование субстрата привело к затягиванию окисления  $Fe^{2+}$  до 20 суток. Лучшие результаты, по сравнению с *A.ferrooxidans*, показал *A.caldulans*. Кривая динамики окисления закисного железа была сходна по форме с кривой для штамма *A.ferrooxidans*, у штамма перелом в активности наступил после 12 суток, но завершение окисления для штамма *A.ferrooxidans* пришлось на 20 сутки, т.е. на двое суток позже культуры *A.caldulans*.

Таким образом, если в первой половине культивирования по окислительной способности популяции тиобацилл можно было распределить: на 2 сутки *A.ferrooxidans* → *A.caldulans*, то после 12 суток порядок изменился: *A.caldulans* → *A.ferrooxidans*.

Одним из ранних методов поддержания культур *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* в активном состоянии является последовательный периодический пересев культур на свежую питательную среду 9К Сильвермана и Лундгрена [3,4]. Именно благодаря этому методу удавалось поддерживать культуры в течение нескольких месяцев в лабораторных условиях.

Для следующего посева в основном брались в различные сроки роста предыдущей культуры. Как видим из рисунка, наблюдается сокращение срока завершения окисления двухвалентного железа от 18 суток (*A.ferrooxidans*) до 16 суток (*A.caldulans*) рис.2.

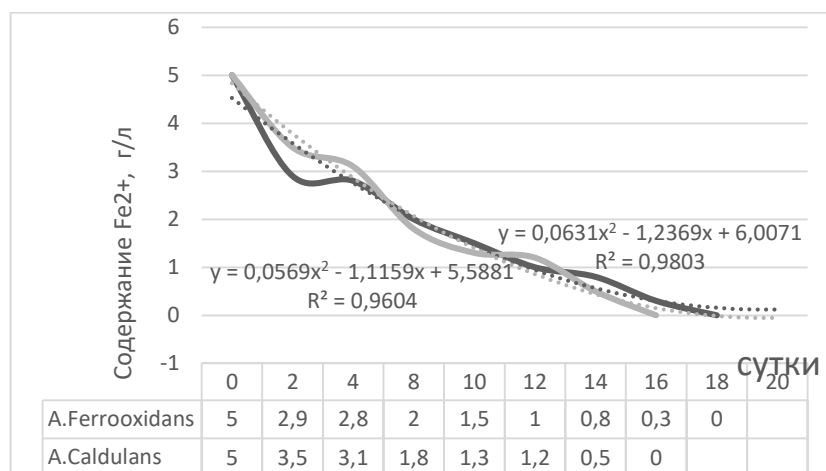


Рисунок 2. Окислительная способность исходных штаммов *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* при втором пересеве.

В общей сложности проведено всего четыре последовательных пересева данных культур. Результаты приведены на рис.3,4.

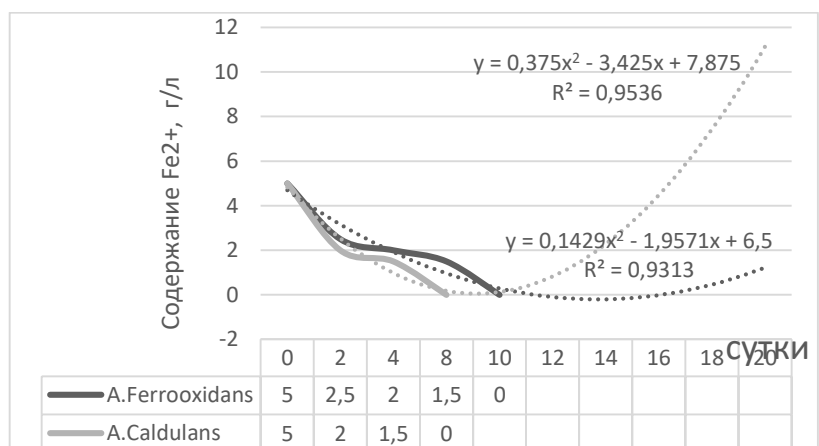


Рисунок 3. Окислительная способность исходных штаммов *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* при третьем пересеве.

Бактерия *A.ferrooxidans* аналогичным образом, реагировала на последовательные пересевы, то есть с каждым последующим пересевом повышалась активность культуры. Вначале активация штамма *A.ferrooxidans* шла медленнее, чем культуры *A.caldulans*, однако после четвертого пересева его активность сравнялась с *A.caldulans* рис.4.

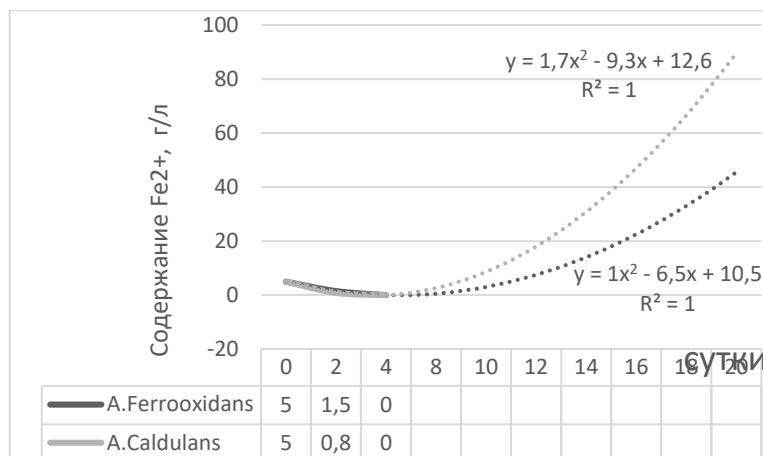


Рисунок 4. Окислительная способность исходных штаммов *A.ferrooxidans* и *A.caldulans* при четвертом пересеве.

Так, *A.caldulans* заметно проявляла свою активность уже после третьего пересева и окисление закисного железа пришлось на восьмые сутки, т.е. на восемь суток раньше исходной культуры. Дальнейшие пересевы еще больше активировали эту культуру. Максимальное активирование у обеих культур было достигнуто после четвертого пересева, когда окисление железа завершилось на четвертые сутки.

Таким образом, исходные штаммы после четвертого пересева активировались, о чем свидетельствует ускорение кинетики окисления железа. Степень активации была разной у двух культур и проходила по разному. Так, у *A.ferrooxidans* время окисления железа ускорилось на четырнадцать суток, у штамма *A.caldulans* на двенадцать суток. Наиболее эффективно при последовательном пересеве активировался штамм культуры *A.caldulans*, который первоначально по показателям окисления закисного железа был неактивен.

### Литература

1. Kanayev A.T., Baymyrzayev K.M., Kanayeva Z.K., Valiev K.K., Tokpayev K.M., Features of physic-chemical and x-ray structure of uranium- containing ore heap leaching field «Vostok»: 19th International Multidisciplinary Scientific Geoconference and EXPO SGEM 2019, Albena, Bulgaria, 28 June -7 July, 2019
2. Минеев Г.Г., Минеева Т.С. Кучное выщелачивание золота из руд различного состава // Цветные металлы. 2005. № 4. С. 28-31
3. Кузьякина Т. И., Хайнасова Т. С., Левенец О. О. Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд // Вестник КРАУНЦ. Серия: Науки о Земле. – 2008. – Т. 12. - №. 2. – С. 76-86.
4. Кондратьева Т.Ф. Разнообразие сообществ ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов в природных и техногенных экосистемах // Микробиология. – 2012.– №. 1. – С. 3-3.

УДК 574.2; 579.23; 579.22; 581.14

## ОПТИМИЗАЦИЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ НА ОСНОВЕ КОНСТРУИРОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИИ

А. Нуржанова<sup>1</sup>, А. Муратова<sup>2</sup>, Р. Бержанова<sup>3</sup>, Т. Мукашева<sup>3</sup>, А. Мамирова<sup>3</sup>,  
А. Нурмагамбетова<sup>1</sup>, Б. Куаныш<sup>3</sup>, А. Корманбай<sup>3</sup>, А. Косылганова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии и биотехнологии растений МОН РК, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Россия, Саратов

<sup>3</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

\*email: [gen\\_asil@mail.ru](mailto:gen_asil@mail.ru)

**Аннотация.** В данной статье представлены данные о выделении из ризосферы мискантуса гигантского, произрастающих на ТМ-загрязненной почве штаммов, обладающих PGPR свойствами и устойчивостью к металлам. Создана коллекция 10 изолятов устойчивых к металлам и обладающие PGPR-свойства. Для повышения эффективности процесса фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв инокулировали проростки мискантуса *Agrobacterium* sp. штаммом Zn1-18. Штамм обладал устойчивостью к тяжелым металлам и PGPR свойствами (способностью продуцировать фитогормон ИУК, синтезировать сидерофоры, фиксировать атмосферный азот и растворять фосфаты). Обнаружено, что при бактериализации штаммом снижало валовое содержание элементов в вегетативных органах растений, что может быть связано с снижением массы корней, что приводит к уменьшению их адсорбционной поверхности и изменению параметров фиторемедиации. Выявлено, что ризобактерии, обладающие PGPR свойствами влияли на коэффициент транслокации элементов из корневой системы в надземную часть мискантуса, при произрастании на загрязненной металлами почве.

**Ключевые слова:** фиторемедиация, ризосфера, микроорганизмы, тяжелые металлы, почва

### Введение

В Казахстане, как во многих других странах мира, высокие темпы промышленного и сельскохозяйственного развития привели к загрязнению земель тяжелыми металлами, что является серьезной экологической проблемой из-за их токсичности и негативного воздействия на здоровье человека и окружающую среду. Накопление тяжелых металлов в сельскохозяйственных почвах и попадание в пищевые цепочки становится серьезной угрозой для продовольственной безопасности.

Разработка инновационной стратегии восстановления почв, загрязненных тяжелыми металлами, является важной и актуальной задачей. В настоящее время разработаны и внедрены технологии фиторемедиации почв, которые воспринимаются, как более устойчивый подход к восстановлению нарушенных земель. Тем не менее, значительный прогресс в эффективности применения фиторемедиации тормозится длительностью периода очистки, низкой биомассой и медленной и неполной деградацией ксенобиотиков [1-4]. Имеются отдельные работы по улучшению производства биомассы и повышению эффективности фиторемедиации за счет применения агротехнических приемов, регуляторов роста и микробных организмов [5, 6].

Фиторемедиация, основанная на синергетическом взаимодействии растений и связанных с ними ризобактерий, является одним из перспективных подходов при очистке почв [7]. Многие микроорганизмы, обитающие в корневой зоне растений и относящиеся к группе стимулирующих рост растений ризобактерий (PGPR), являются устойчивыми к загрязнителям, участвуют в процессах их трансформации в ризосфере, способствуют их фитоаккумуляции и одновременно, позитивно влияют на рост растений-ремедиантов [8]. Они

облегчают адаптацию растений-хозяев к субоптимальным почвенным условиям во время стрессового состояния и повышают эффективность фиторемедиации, за счет стимулирования роста растений, изменения биодоступности элементов в почве путем восстановления, окисления, метилирования или деметилирования, компартментализации и преобразования их в менее токсичное состояние [9, 10]. В этой связи выделение, изучение и применение в процессе фиторемедиации устойчивых к тяжелым металлам PGPR актуально для процесса фиторемедиации загрязненной металлами почвы [11]. Считают, что выделение тяжелых металлов из почвы с помощью фитобактериальных систем предпочтительнее, чем применение фиторемедиации [12, 13].

В этой связи выделение, изучение и дальнейшее использование стимулирующих рост растений ризобактерий (PGPR), проявляющих детоксикационную активность по отношению к неорганическим загрязнителям, представляет собой актуальную задачу современных исследований в области ризосферной биологии.

### Материал и методы

Для определения численности и количественного состава микробного сообщества в ризосфере *Miscanthus × giganteus* Greef et Deu (мискантус) проращивали на ТМ-загрязненной почве. Растение имеет длительный период вегетации, большой выход биомассы, способность произрастать в течение 20-30 лет, высокую энергоемкость, что делает его перспективным в альтернативной энергетике [14]. Высокое содержание лигноцеллюлозы в биомассе мискантуса является перспективным для ее переработки в биопродукты: волокна [15] и строительные материалы [16].

В качестве почвенной культуры использовали:

- 1) искусственно-загрязненную почву солями  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  и  $Pb(NO_3)_2$  в концентрации 15 ПДК (ПДК Zn в почве 55 мг/кг, ПДК Pb в почве 32 мг/кг);
- 2) почву из территории Текелийского горно-обогатительного комплекса ОАО "Казцинк";
- 3) незагрязненную почву (контроль).

При оценке уровня загрязнения почвы из территории горно-обогатительно-го комбината методом атомно-абсорбционной спектроскопии выявлено, что почва загрязнена элементами, превышающие предельно допустимые концентрации (ПДК) в десятки-сотни раз. Основными загрязнителями почвы были Pb, As, Zn, Cu, Ni, Co и Cr. Наряду высокотоксичными тяжелыми металлами в почве были выявлены менее опасные элементы, такие как Ba, Mn и Sr, а также Fe и следы U. Отмечено, что концентрации некоторых металлов (Co, Ni, Cr, Cu, Ba, Sr) в незагрязненной почве также превышали ПДК в десятки раз, что свидетельствует о распространении их по почвенному покрову в результате ветровой эрозии.

Для выделения из ризосферы мискантуса микроорганизмов-деструкторов (ризосферных бактерий, актиномицетов и грибов) тяжелых металлов определения их родовых признаков использовали общепринятые микробиологические методы [17]. Устойчивость выделенных ризобактерий к ионам тяжелых металлов оценивали по росту их в жидкой среде LB, содержащие возрастающие концентрации металлов (сульфата цинка и ацетата свинца): 0,2; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0 mM. Устойчивость микроорганизмов к тяжелым металлам характеризовали по величине минимальной ингибирующей концентрации (МИК) металла в среде, при которой наблюдалось подавление роста микроорганизма [18, 19]. Ростстимулирующие свойства (PGPR-свойства) выделенных изолятов оценивали по способности их к синтезу ИУК, к фиксации атмосферного азота, продукции сидерофоров и фосфатмобилизующей активности [20-23].

Для повышения эффективности фиторемедиации загрязненной металлами почвы из территории горно-обогатительного комбината проводили инокуляцию, выделенным из ризосферы мискантуса штаммом, обладающей PGPR свойствами и устойчивостью к металлам.



Для этого получали микробную биомассу, выращивая их на питательной агаризованной среде R2A. Двухсуточную микробную биомассу собирали, промывали физраствором дважды и ресуспендировали в воде для полива растений. Бактеризацию растений проводили в период всхожести, поливая соответствующие варианты микробной суспензией до конечной концентрации клеток в почве не менее  $10^6$  клеток на грамм.

Определение тяжелых металлов (As, Pb, Zn, Co, Ni, Cr, Cu, Sr, Mn, Ba, V) в незагрязненной и загрязненной почве, в вегетативных органах (корень, стебель, листья) проводили на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой ИСП-МС, Agilent 7500 series.

Все экспериментальные данные статистически обрабатывали общепринятыми методами, построение графиков, диаграмм проводили после обработки данных, с использованием компьютерной программы «Microsoft Excel». Достоверность различий сравниваемых значений доказывали с использованием критерия Стьюдента с учетом уровней значимости (p).

### **Результаты и их обсуждение**

*Скрининг ризобактерии для создания растительно-ризобактериальной ассоциации на основе мискантуса для повышения эффективности фиторемедиации почвы.*

Изучена ассоциативная микрофлора в ризосфере мискантуса, произрастающих на незагрязненной, искусственно-загрязненной почве и почве из территории Текелийского горно-обогачительного комплекса. Установлено, что ассоциативная микрофлора в ризосфере растений представлена бактериями, мицелиальными грибами, дрожжами и актиномицетами. Выявлено, что загрязнение почвы тяжелыми металлами вызывает существенные изменения в составе ризосферной микрофлоры: снижение численности бактерии и актиномицетов до 8,7 раз и увеличение численности микромицетов до 3,4 раза по сравнению с контролем. Выделено 232 изолятов из ризосферы мискантуса, изучены PGPR-свойства и устойчивость их к соединениям  $Zn^{2+}$  и  $Pb^{2+}$ . Из 76 исследованных изолятов, выделенных из ризосферы мискантуса, выращенных на искусственно-загрязненной почве только один штамм проявлял все исследованные PGPR свойства, по показателям МИК был устойчив к цинку и свинцу при концентрации 1.5 и 2.0 ммоль/л соответственно. Остальные изученные штаммы имели один-три из четырех PGPR-признаков. По показателям МИК ( $\geq 5.0$  ммоль/л) устойчивым к цинку проявлял штамм Zn 210, а устойчивым к свинцу штамм Pb 24 ( $\geq 3.0$  ммоль/л).

Оценивая распространенность ризобактерии с PGPR-свойствами и устойчивостью к металлам среди исследованных 156 изолятов, выделенных из ризосферы мискантуса, произрастающих на техногенно-загрязненной почве 30% штаммов, обладали способностью к синтезу фитогормона ИУК, 11% – способностью к растворению фосфатов и 15% – способностью к фиксации атмосферного азота. По результатам исследования два штамма проявляли все исследованные PGPR свойства, а три штамма обладали двумя из трех этих признаков. По показателям МИК ( $\geq 4.0$  ммоль/л) устойчивым к цинку и свинцу проявлял штамм SA1, а штамм Zn 1-18 – устойчивостью к цинку.

Создана коллекция 10 изолятов, устойчивых к металлам и обладающие PGPR-свойства, которые могут быть апробированы для повышения эффективности фитотехнологии почв, загрязненных тяжелыми металлами. Для конструирования растительно-микробных ассоциации использовали выделенный штамм *Agrobacterium sp.* Zn1-18 из ризосферы мискантуса, обладающей PGPR свойствами (способностью к фиксации атмосферного азота, растворению труднодоступных фосфатов, синтезу сидерофоров и продукции фитогормона ИУК) и способностью к росту при содержании в среде ионов цинка до 4.0 ммоль/л, а ионов свинца до 2,5 ммоль/л.

*Влияние растительно-микробных ассоциации на продуктивность и фиторемедиационные параметры мискантуса.*

Полевые исследования проводили на экспериментальном участке Института (мелко-деляночные условия). Площадь делянки 1x1 м. Повторность опыта 2х кратная. В качестве

почвенной культуры использовали почву из территории Текелийского горно-обогатительного комбината. Инокуляцию штаммом *Agrobacterium sp. Zn1-18 M x giganteus* проводили в период всхожести. В качестве контроля использовали незагрязненную почву с/без бактериализации. Период культивирования 6 месяцев.

В полевых условиях штамм *Agrobacterium sp. Zn1-18* продемонстрировал значительное влияние на рост растений мискантуса, как на незагрязненной, так и на загрязненной почве из территории горно-обогатительного комбината. При произрастании мискантуса на загрязненной тяжелыми металлами почве в условиях бактериализации, выявлено, что штамм *Agrobacterium sp. Zn1-18* снижает массу корневой системы до 77%, но при этом увеличивает надземную биомассу до 50% относительно загрязненной почвы. Анализировали содержание 12 элементов (As, Pb, Zn, Co, Ni, Cr, Cu, Sr, Mn, Ba, V, U) в корне и надземных органах мискантуса, произраставших на незагрязненной и загрязненной почве. Установлено, что при выращивании мискантуса на загрязненной почве в условиях без инокуляции, элементы Pb, Co, V и U накапливались в основном в корнях; Zn, Mn и Sr – в надземной биомассе; Ba и Ni равномерно накапливались в корнях и надземной биомассе. Отмечено, что эта закономерность характерна для растений, произрастающие не только на загрязненной, но и на незагрязненной почве. Накопление тяжелых металлов растением, выращенных на контрольной незагрязненной почве, вероятно, было вызвано с повышенными концентрациями, несмотря на то, что образцы собирались на расстоянии 1 км от эпицентра загрязнения. Эти данные подтвердили, что тяжелые металлы могут распространяться на значительные расстояния посредством ветровой эрозии из эпицентра. Для подобных исследований рекомендуем проводить отбор контрольных образцов почвы с большего расстояния, чем 1 км от эпицентра.

При бактериализации растения штаммом выявлено изменения в процессе фиторемедиации: снижение общего валового содержания элементов в вегетативных органах, вероятно это связано с уменьшением массы корней, что естественно приводит к уменьшению адсорбционной поверхности корневой системы. Несмотря на снижение концентрации элементов в вегетативных органах, при расчете коэффициента транслокации ( $K_t$ ) обнаружено, что при бактериализации практически все элементы, такие как As, Cr, Pb, Co, Ni, Cu, V, Zn, Sr, Ba и U, за исключением Mn и Cu накапливались в корневой системе ( $K_t < 1$ ), что свидетельствует о снижении миграции их из корневой системы в надземную часть, по отношению к ним растение выступает, как эксклюдер. Но при этом, при инокуляции штаммом повышается миграция Mn и Cu из корневой системы в надземную часть: накопление Cu возросло в надземной части на 41% ( $p < 0,001$ ), а Mn на 10% по сравнению с опытом без инокуляции (рисунок 1). Для оценки эффективности детоксикации металлов в почве при ассоциации ризобактерии и мискантуса определили содержание их до и после опыта (Рисунок 2). Установлено, что при бактериализации снижается валовое содержание элементов в почве после эксперимента, т.е. при бактериализации повышается иммобилизация их в почве. Валовое содержание токсичного элемента Pb снижается до 35%, Zn до

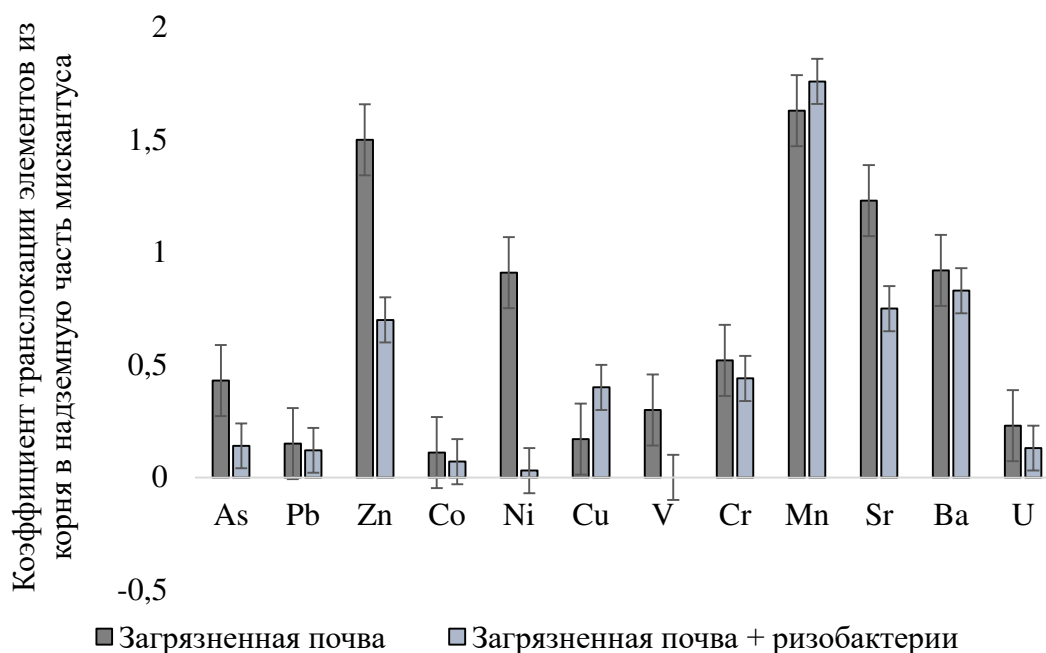


Рисунок 1. Влияние интродукции штамма *Agrobacterium sp. Zn1-18* на миграцию элементов из корневой системы в надземную часть мискантуса

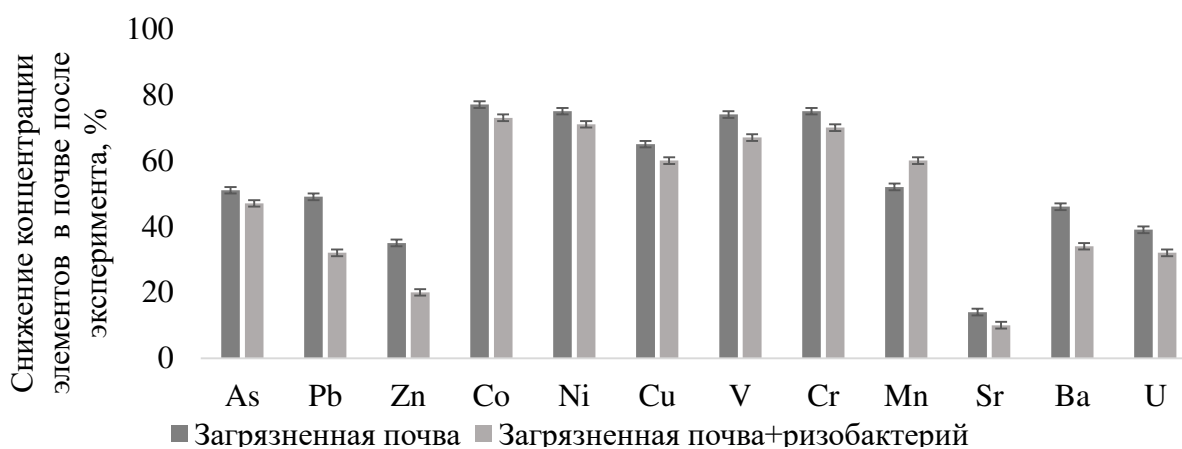


Рисунок 2. Влияние инокуляции штамма *Agrobacterium sp. Zn1-18* на изменение концентрации тяжелых металлов в почве до и после культивирования мискантуса

42%, а концентрация остальных металлов от 5 до 26% по сравнению с исходной загрязненной почвой.

Полученные результаты свидетельствуют, что бактериализация *Agrobacterium sp.* растения приводит к изменению показателей продуктивности в сторону снижения биомассы корневой системы, что естественно влияет на эффективность фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами. Применение бактериализации ризобактерием мискантуса на техногенно-загрязненной почве способствовала повышению эффективности восстановления путем фитоэкстракции Mn, Cu и фитостабилизации Pb, Co, Ni, V, Cr, As, V, Zn, Sr, Ba и U (в большей степени Pb) в почве.

### Заклучение

Проведенное исследование показало, что выделение и инокуляция проростков мискантуса ризосферным штаммом *Agrobacterium sp.*Zn1-18 с выраженными PGPR свойствами и устойчивостью к металлу приводит к значительному повышению биомассы корневой системы фиторемедианта и изменяет эффективность очистки загрязненной почвы. Сложные и пока не вполне понятные взаимодействия в системе растение-микроорганизм-загрязнитель требуют дальнейшего изучения с целью выяснения механизмов действия PGPR и предсказания стратегии поведения микробных интродуцентов для решения задач фиторемедиации.

### Литература

- 1 Jing Y.D., He Z.L. Yang X.E. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil // J.Zhejiang University Science B. – 2007.–Vol. 8, Is.3. – P. 192–207.
- 2 Mitter B., Pfaffenbichler N., Sessitsch A. Plant–microbe partnerships in 2020 // Microbial biotech-nology. – 2016. – Vol. 9, No 5. – P. 635-640.
- 3 Singh A., Prasad S.M., Singh S., Singh M. Phytoremediation potential of weed plants' oxidative biomarker and antioxidant responses // Chem. Ecol. – 2016. – Vol 32. – P.684–706.
- 4 Ojuederie O.B., Babalola O.O. Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review // Int J Environ Res Public. – 2017. – Vol. 14. Is. 12. – P. 1504-1514.
- 5 Nebeská D., Pidlisnyuk V., Stefanovska T., Trögl J., Shapoval P., Popelka J., Černý J., Medkow A., Kvak V., Malinská H. Impact of plant growth regulators and soil properties on *Miscanthus x giganteus* biomass parameters and uptake of metals in military soils // Rev. Environ. Health. – 2019. – Vol. 34. – P. 283-291.
- 6 Khan W.U., Ahmad S.R., Yasin N.A., Ali A., Ahmad A. Effect of *Pseudomonas fluorescens* RB4 and *Bacillus subtilis* 189 on the phytoremediation potential of *Catharanthus roseus* (L.) in Cu and Pb-contaminated soils // Int. J. Phytoremediation. – 2017. – Vol.19, – P. 514-521.
- 7 Glick B.R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment // Biotechnol. Adv. – 2003. – Vol. 21. – P. 383–393.
- 8 Costa P., Granada C., Ambrosini A., Moreira F., de Souza R., dos Passos J., Arruda L., Passaglia L. A Model to Explain Plant Growth Promotion Traits: A Multivariate Analysis of 2, 211 Bacterial Isolates // PLoS ONE. – 2014 – Vol.9, N 12. – P.116020
- 9 Oves M., Khan M.S., Zaidi A.. Chromium reducing and plant growth promoting novel strain *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 enhance chickpea growth in chromium amended soils // Eur. J. Soil Biol. – 2013. – Vol.56. – P.72-83.
- 10 Hassan T.U., Bano A., Naz I., 2017. Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field // Int. J. Phytoremediation – 2017. – Vol. 19. – P. 522-529.
- 11 Ojuederie O., Babalola O. Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: a review // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2017. – Vol. 14, No 12. – P. 1504.
- 12 Ashraf M. A., Hussain I., Rasheed R., Iqbal M., Riaz M., Arif M.S. Advances in microbe-assisted reclamation of heavy metal contaminated soils over the last decade: A review // Journal of Environmental Management. –2017. –Vol. 198, P. 132–143.
- 13 Fan D., Schwinghamer T., Smith D.L. Isolation and diversity of culturable rhizobacteria associ-ated with economically important crops and uncultivated plants in Québec, Canada // Syst. Appl. Microbiol. – 2018. doi:10.1016/j.syapm.2018.06.004
- 14 Han M., Kim Y., Koo B.C., Choi G.W.. Bioethanol production by *Miscanthus* as a lignocellulosic biomass: Focus on high efficiency conversion to glucose and ethanol // Bioresources . – 2011. – Vol.6. – P. 1939-1953.

- 15 Villaverde J.J., Ligeró P., Vega A.D. *Miscanthus x giganteus* as a source of biobased products through organosolv fractionation: a mini review // *The Open Agriculture J.* – 2010. – Vol. 4. – P. 102-110
- 16 Park H.J., Oh S.W., Wen M.Y., 2012. Manufacture and properties of *Miscanthus*-wood particle composite boards // *J. Wood Sci.* – 2012. – Vol. 58. – P. 459-464.
- 17 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: МГУ, 1991. – С. 59 -75.
- 18 Mergeay M., Nies D., Schlegel H., Gerites I. *Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistance to heavy metals // *J. Bacteriol.* – 1985. – Vol. 162. – N 1. – С. 328-334.
- 19 Schmidt, T., & Schlegel, H. G. (1989). Nickel and cobalt resistance of various bacteria isolated from soil and highly polluted domestic and industrial wastes FEMS // *Microbiology Letters.* – 1989. – Vol. 62. – N 5. – С. 315-328.
- 20 Belimov A.A., Hontzeas N., Safronova V.I., Demchinskaya S.V., Piluzza G., Bullitta S., Glick B.R. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) // *Soil Biol. Biochem.* – 2005. – Vol. 37. – P. 241 – 250.
- 21 Glickmann E., Dessaux Y. A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by *Phytopathogenic* Bacteria // *Applied and Environmental Microbiology.* – 1995. – Vol. 61. – P. 793-796.
- 22 Муромцев Г.С. Методы изучения растворения фосфатов кальция микроорганизмами // *Микробиология.* – 1957. – Т. 26. – С. 172-178.
- 23 Schwyn, B., Neilands, J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores // *Analytical Biochemistry.* – 1987. – Vol. 160, Is. 1. – P. 47–56.

УДК 579.63; 574.22

## ВЫЯВЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНЫХ LUX-БИОСЕНСОРОВ

С.К. Абилев, Е.В. Иголина, Д.А. Свиридова, С.В. Смирнова

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г.Москва, Россия*  
e-mail: [abilev@vigg.ru](mailto:abilev@vigg.ru)

**Аннотация.** Приведены результаты выявления и изучения механизма генотоксического действия широкого круга встречающихся в окружающей среде химических агентов: лекарственные средства, пестициды, БАДы, комплексные загрязнители среды с помощью lux-биосенсоров. Биосенсоры представляют собой бактерии на основе штамма *E.coli* MG1655, несущие рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*, транскрипционно слитым с промоторами индуцибельных генов: *recA*, *colD*, *dinI*, *alkA*, *soxS* и *katG*. Изучено также модифицирующее действие антиоксидантов, радиопротекторов и оксида дейтерия на генотоксические эффекты химических агентов.

**Ключевые слова:** lux-биосенсоры, *E.coli*, лекарственные средства, химические агенты, загрязнители среды, генотоксичность, антиоксиданты

Биосенсоры представляют собой организмы, которые отвечают на воздействие факторов окружающей среды, и этот ответ можно количественно зарегистрировать и интерпретировать как определенную биологическую активность фактора воздействия. В качестве биосенсоров наибольшее распространение получили люминесцирующие бактерии. Различные природные

и рекомбинантные люминесцирующие бактерии стали инструментом проведения экологического мониторинга. Созданы специфичные «репортерные системы», которые расширили сферу применения люминесцентного анализа. Они основаны на результатах фундаментальных исследований механизмов работы сигнальных систем у бактерий. Идентификация и секвенирование генов, контролирующих синтез белков, входящих в сигнальные системы, позволили создавать рекомбинантные люминесцирующие бактериальные биосенсоры [1,2].

В настоящей работе представлены основные результаты валидационных исследований с применением lux-биосенсоров на основе штамма *E. coli* MG1655 с целью определения возможности их использования для изучения генотоксичности и механизмов генотоксического действия, антиоксидантной и радиопротекторной активности широкого круга химических соединений, для мониторинга факторов окружающей среды.

#### **Материалы и методы**

При формировании набора lux-биосенсоров нами были использованы штаммы *E. coli* MG1655, несущие плазмиду с промоторами индуцибельных генов: *recA*, *cold*, *dinI*, *alkA*, *soxS* и *katG*, транскрипционно сшитыми с lux-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*. Набор таких биосенсоров зависел от задачи исследования. Например, для изучения генотоксичности многих химических соединений был выбран штамм с промотором колицинового гена *cda* (pColD). Для изучения способности солей металлов и фармакологически активных препаратов индуцировать в бактериальной клетке окислительный стресс и SOS-ответ был использован набор lux-биосенсоров, состоящий из трех штаммов *E. coli*, несущих рекомбинантную плазмиду с lux-опероном, слитым с промоторами генов супероксиддисмутазы *SoxS*, каталазы *KatG* или колицина *Cold*.

Детали процедуры проведения экспериментов описаны в работах [1-3].

#### **Основные результаты**

При валидации новой тест-системы принято сравнивать полученные результаты с ранее полученными данными в других тест-системах. Была изучена активность на lux-биосенсорах 47 веществ, включая такие органические растворители, как диметилсульфоксид и этанол. 20 веществ показали активность в использованной батарее биосенсоров: 16 веществ индуцировали SOS-ответ, 6 — индуцировали окислительный стресс. Сравнение полученных результатов с данными о мутагенной активности этих препаратов в тесте Эймса показало полное совпадение результатов для 42 веществ. Кроме того, тест отличается высокой чувствительностью и быстротой выполнения, результаты можно получить в течение 3-4 часов, и, в отличие от теста Эймса, легко поддаются автоматизации [3].

Сравнение результатов тестирования веществ на сенсоре pColD-lux совпало с данными, приведенными в сводке результатов изучения большого числа веществ в SOS-хромотесте [4]. Это означает, что данные полученные люминесцентным методом аналогичны результатам колориметрического метода детектирования SOS-ответа с помощью штамма *E. coli* PQ37, у которого ген *lacZ* слит с промотором гена *sfiA*, входящего в систему SOS-ответа [5]. Ответ люминесцентного сенсора pColD-lux регистрируется по интенсивности свечения, тогда как ответ штамма *E. coli* PQ37 — по результатам биохимической реакции галактозидазы с субстратом ОНФГ (о-нитрофенил-β-D-галактопиранозил).

Таким образом, нами было показано, что lux-тест на SOS-ответ *E. coli* с точки зрения технического выполнения и по экономичности более удобен, чем SOS-хромотест, так как регистрация ответа происходит по свечению бактерий и не требует дополнительных манипуляций, таких как лизис бактерий после инкубации и определение ферментативной активности. Непосредственный анализ люминесценции бактерий позволяет одновременно регистрировать зависимость SOS-ответа как от концентрации тестируемого соединения, так и от продолжительности воздействия в динамике [3].

Биосенсоры pSoxS–lux и pKatG–lux были использованы для изучения влияния 29 веществ, включая известные антиоксиданты, противолучевые средства, аминокислоты и витамины на окислительный стресс в бактериальных клетках *E. coli*, индуцированный паракватом и перекисью, соответственно [5]. Люминесценция биосенсоров происходит в результате активации промотора генов *soxS* и *katA* в ответ на увеличение концентрации супероксид-радикала и  $H_2O_2$  в клетке. В случае антиоксидантного действия изучаемого вещества интенсивность индуцированной люминесценции снижается, а в случае прооксидантного действия – возрастает.

Антиоксидантную активность проявили 23 из 29 веществ (79%) на биосенсоре pKatG–lux и 22 из 29 веществ (76%) на биосенсоре pSoxS–lux. Изученные противолучевые средства (10 веществ) проявили разную степень про- и антиоксидантной активности. Высокую прооксидантную активность среди противолучевых средств на биосенсоре pKatG–lux в низких концентрациях проявили: литиевая и магниевая соли дисульфида глутатиона, цинковая соль восстановленного глутатиона, моликсан и индралин; на биосенсоре pSoxS – генистеин, цистамин и АЕД. По итогам работы был сделан вывод о применимости lux-биосенсоров для первичной оценки потенциальной антиоксидантной и радиопротекторной активности химических соединений [6].

Исследована антиоксидантная активность бесклеточных супернатантов культур штаммов лактобацилл, выделенных из микробиоты человека. В качестве тест-системы использовали биосенсоры pSoxS–lux и pKatG–lux, реагирующие на присутствие супероксид-аниона (параквата) и перекись водорода. Более 60% из исследованных 81 штамма пять видов лактобацилл демонстрировали антиоксидантную активность. Активность ряда штаммов была подтверждена методом определения суммарного количества глутатиона [7].

Нами впервые в мире было показано, что «тяжелая вода» – оксид дейтерия ( $D_2O$ ) усиливает SOS-ответ клеток *E. coli*, индуцированный химическими генотоксикантами и мутагенами. Этот факт свидетельствует о том, что тяжёлый нерадиоактивный изотоп водорода дейтерий можно рассматривать в качестве комутагена [8].

Эффект дейтерирования в биологических системах заключается в замедлении многих ферментативных процессов, которое связано с замещением водорода на D в биологических молекулах, и связь C–D примерно в 10 раз прочнее, чем C–H. Поэтому изучение модифицирующего действия дейтерия на генетические процессы в клетках живых организмов имеет большое значение хотя бы в силу того, что в настоящее время недостаток природной питьевой является глобальной проблемой. Одним из способов добычи питьевой воды является опреснение морской воды с помощью атомных реакторных установок, что повышает содержание дейтерия в воде.

Для изучения влияния  $D_2O$  на индуцибельные процессы в клетке *E. coli* было проведено сравнительное изучение индукции генов *recA* и *katA* в дейтерированных и недейтерированных культурах. Использовали биосенсоры pRecA–lux и pKatA–lux, люминесцирующие в результате активации промоторов указанных генов в ответ на воздействие, вызванное  $H_2O_2$ . Выявлено, что  $D_2O$  снижает уровень экспрессии гена *katA*, что может привести накоплению  $H_2O_2$ , и, соответственно, увеличению уровня повреждений ДНК, регистрируемых по увеличению экспрессии гена *recA* [9].

Подобное сравнительное изучение с использованием биосенсора pAlkA–lux, люминесцирующего в результате активации промотора гена *alkA* в ответ на алкилирование ДНК, показало, что предварительное дейтерирование биосенсора усиливает экспрессию гена *alkA*, индуцированную нитрозометилмочевинной и метилметансульфонатом, от 1,3 до 5 раз в зависимости от концентрации  $D_2O$  и мутагенов. Нами было выдвинуто предположение, что дейтерирование может быть одним из главных факторов стабилизации связи между промотором и алкилированным белком Ada, следовательно, усиления транскрипции *ada*-регулона [10].

### Заключение

Таким образом, нами установлено, что рекомбинантные люминесцирующие биосенсоры могут быть с успехом использованы для генетического мониторинга генотоксичных химических соединений окружающей среды, а также факторов, модифицирующих их активность.

### Литература

- 1 Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Lux-биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса // Биотехнология.- 2009. -№6.- С. 16-25.
- 2 Abilev S.K., Kotova V.Y., Smirnova S. V. et al. Specific Lux Biosensors of *Escherichia coli* Containing pRecA::lux, pColD::lux, and pDinI::lux Plasmids for Detection of Genotoxic Agents // Russian Journal of Genetics. -2020. -V. 56.- No.6.- P. 666–673.
- 3 Игонина Е.В., Марсова М.В., Абилев С.К. Lux-биосенсоры: скрининг биологически активных соединений на генотоксичность. // Экологическая генетика.- 2016. -№4.- С.52- 62 .
- 4 Quillardet P., Hofnung M. SOS chromotest: a review. // Mutat. Res. -1993.- V. 297.- P.235-279.
- 5 Quillardet P., Huisman O., D'Ari R. et al. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K12 to measure genotoxicity// -Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.- 1982.- V.79. -P.5971-5975.
- 6 Абилев С.К., Свиридова Д.А., Гребенюк А.Н. и др. Взаимодействие про- и антиоксидантной активностей противолучевых средств с помощью lux-биосенсоров// -Радиационная биология. Радиоэкология.- 2019.- Т. 59.- № 5.- С. 75–487.
- 7 Marsova M.V., Abilev S.K., Poluektova E.U., Danilenko V. N. A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of lactobacillus strains from human microbiota // World Journal of Microbiol. and Biotechnol. - 2018.- V. 34.- P.27.
- 8 Abilev S. K., Smirnova S.V., Igonina E.V. et al. Deuterium Oxide Enhances *Escherichia coli* SOS Response Induced by Genotoxicants// -Doklady Biological Sciences. -2018.- V.480.- P. 1–5.
- 9 Абилев С.К., Игонина Е. В., Смирнова С. В., Рубанович А. В. Влияние дейтерия на экспрессию индуцибельных генов у *Escherichia coli* // - Радиационная биология. Радиоэкология, 2019.-Т.59.- № 3. С. 305–310.
- 10 Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V. et al. The Effect of Deuterium on Induction of the ada-Regulon with Alkylating Compounds in the Cells of *Escherichia coli*. // - Russian Journal of Genetics.- 2018.- V. 54, No. 8.- P. 919–924.

UDC 574.23; 579.63

### DIVERSITY AND DEGRADATIVE CAPABILITIES OF BACTERIA AND FUNGI ISOLATED FROM OIL-CONTAMINATED AND HYDROCARBON-POLLUTED SOILS IN KAZAKHSTAN

Annett Mikolasch<sup>1</sup>, Anne Reinhard<sup>1</sup>, Anel Omirbekova<sup>2</sup>, Anna Alimbetova<sup>2</sup>, Ramza Berzhanova<sup>2</sup>, Togzhan Mukasheva<sup>2</sup>, Bolatkhan Zayadan<sup>2</sup>, Tim Urich<sup>1</sup>, Frieder Schauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied Microbiology, Institute of Microbiology, University Greifswald, Greifswald, Germany

<sup>2</sup>Department of Biology and Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

e-mail: annett.mikolasch@uni-greifswald.de

Bacteria and fungi were isolated from eleven different soil samples from different regions in Kazakhstan contaminated with oil or salt or aromatic compounds (Figure 1).



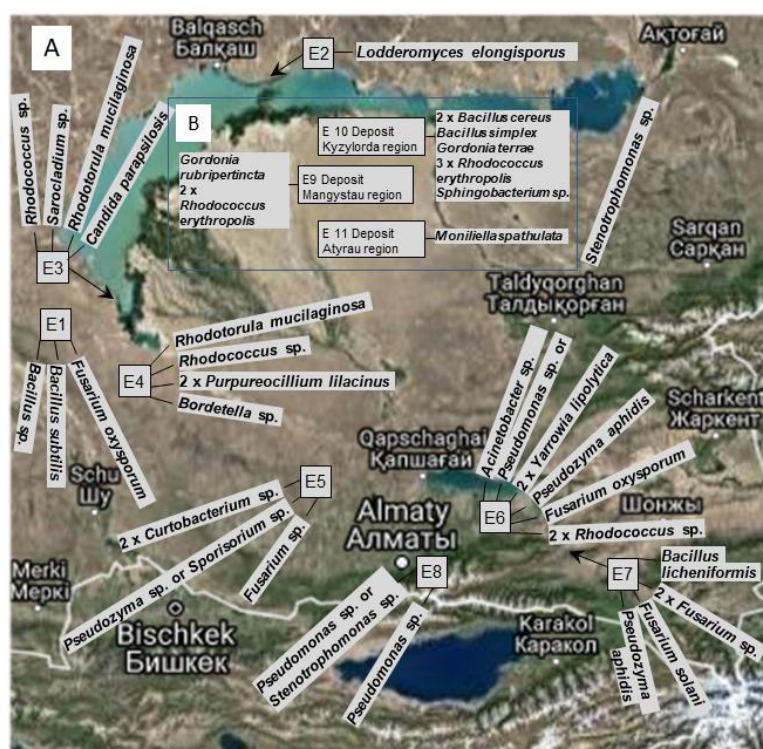


Figure 1. Comparative presentation of the “culturome” biodiversity of the hydrocarbon degraders of the polluted soils (E1–E8) from the north bank of the Lake Balkhash to the Talgar Pass and of the oil-polluted deposits of the Mangystau, the Kyzylorda and the Atyrau region (around 994 miles/ 1600 km, 466 miles/ 750 km, 1242 miles/ 2000 km further to the west)

For the isolation of the organisms, we used, on the one hand, typical hydrocarbons such as the well utilizable aliphatic alkane tetradecane, the hardly degradable multiple-branched alkane pristane, and the biaromatic compound biphenyl as enrichment substrates. Furthermore, we also used oxygenated derivatives of alicyclic and monoaromatic hydrocarbons, such as cyclohexanone and *p-tert*-amylphenol, which are known as problematic pollutants. On the other hand, especially for the soil samples from oil deposits, we used crude oil for the isolation.

More than seventy bacterial and fungal strains were isolated, and nearly the half of them were clearly able to metabolize some of the named isolation substrates, as tested by HPLC-UV/Vis and GC-MS analyses. To study the effects of indigenous soil bacteria of oil-contaminated soil from oil fields of the Kyzylorda, Mangystau and Atyrau region more than thirty bacterial and fungal strains were isolated from heavily contaminated soils of these deposits and characterized for their abilities to degrade crude oil components.

A lot of isolated strains from different genera belong to well-described hydrocarbon degraders like some Rhodococci and Bacilli as well as *Acinetobacter*, *Gordonia*, *Pseudomonas*, *Fusarium*, *Candida*, and *Yarrowia* species. However, species of the bacterial genus *Curtobacterium*, the yeast genera *Lodderomyces* and *Pseudozyma*, as well as the filamentous fungal genera *Purpureocillium* and *Sarocladium*, which have rarely been described as hydrocarbon degrading, were isolated and shown to be efficient tetradecane degraders, mostly via monoterminal oxidation. Pristane was exclusively degraded by *Rhodococcus* isolates. *Candida*, *Fusarium*, and *Rhodotorula* strains degraded cyclohexanone, and in doing so accumulate  $\epsilon$ -caprolactone or hexanedioic acid as metabolites. Biphenyl was transformed by *Pseudomonas*/*Stenotrophomonas* isolates, and naphthalene by *Bacillus*, *Rhodococcus*, and *Sphingobacterium* strains. Mostly *Gordonia* and

*Rhodococcus* isolates and one special *Moniliella* species used an unusually wide spectrum of hydrocarbons of the crude oil as substrates (more than 80, one special strain more than 150), including *n*-alkanes with chain lengths ranging from C<sub>12</sub> to C<sub>32</sub>, monomethyl- and monoethyl-substituted alkanes (C<sub>12</sub>–C<sub>23</sub>), *n*-alkylcyclo alkanes with alkyl chain lengths from 4 to 25 carbon atoms, as well as substituted monoaromatic and diaromatic hydrocarbons. During their transformation of this wide range of hydrocarbon substrates, a variety of organic acids from oil components, of which 59 were identified and 11 of them are hitherto unknown acidic oil metabolites. Inoculating barley seeds together with different combinations of the isolated strains restored normal growth of the plants on contaminated soils, demonstrating the power of this approach for bioremediation.

UDC 57.088.1

## SOM- AND PARAFAC-ASSISTED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY AS A TOOL FOR UNSUPERVISED ENVIRONMENTAL MONITORING

Ilya Digel<sup>1</sup>, Thorsten Sichtermann<sup>1</sup>, Fouad Azar<sup>1</sup>, Nuraly Akimbekov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aachen University of Applied Sciences, Heinrich-Mussmann-Straße 1, D 52428, Jülich, Germany

<sup>2</sup>al-Farabi Kazakh National University, al-Farabi ave. 71, 050040, Almaty, Kazakhstan

e-mail: digel@fh-aachen.de

**Abstract. Background:** Automatization for environmental monitoring of water for quick and reliable identification, quantification and characterization of dissolved organic material and microorganisms has been actively pursued for several decades. The main goal of our pilot study was to investigate the analytical potential of the 3-D fluorescence spectroscopy enhanced by self-organizing maps and parallel factor analysis for the automated identification and quantification of various dissolved compounds, such as amino acids, NADH, FAD, ATP, some inorganic salts etc. individually and in mixtures. **Methods:** Excitation-emission matrices (EEMs) of different inorganic compounds were recorded using the fluorescence spectrophotometer FP-8500 (Jasco Co. Japan). The obtained spectroscopic data were then analyzed and systematized using both supervised and unsupervised neuronal networks assisted by a k-means clustering or a parallel factor analysis. The performance of the applied algorithms was evaluated by topographic criteria as well as subjectively. **Results and conclusions:** To classify different chemical species, a feedforward neural network was designed and trained using EEMs. Using PARAFAC, EEMs of mixtures could be broken down into singular EEM components. Thus, EEMs could be distinguished (SOM) and correctly classified by feedforward neural networks (FNN). Summarizing, it can be concluded that the applied combined approaches (EEM-SOM-FNN and EEM-PARAFAC-FNN) provide adequate performance in distinction between various substances and these methods may develop into a viable tool for detection and identification of dissolved compounds in their mixtures by robotic probes in a highly autonomous manner.

**Keywords:** fluorescence spectroscopy, self-organizing maps, k-means clustering, excitation-emission matrix, PARAFAC

### Background

Obviously, various water solutions are absolutely critical for the origin, health, wellbeing, development and even the very existence of the mankind and the whole biosphere. The compositional analysis of aqueous solutions is not only critical in assessing of ecological and medicinal factors, but in understanding the origin of mankind and its biosphere. There is an increasingly growing set of practical demands (such as biotechnological and environmental monitoring) as well as remaining huge number open theoretical questions, related to artificial and natural aqueous systems – from fundamental investigations of unique primeval aquatic habitats up to personalized medicine. Unavoidably, future scientific and technical tools for various analytical tasks and research missions will become more and more automatized. This is especially true for analytical monitoring in harsh

and unusual environmental conditions, such as submarine or space exploration. In these and many other cases, sampling and data analysis have to rely on fully automated technical solutions, preferably those possessing self-learning features.

The ultimate goal of our research work is to contribute to the development of monitoring methods that are (a) sensitive, (b) noninvasive, (c) require little to no sample handling, (d) can be applied for unsupervised data analysis and (e) can guide autonomous navigation of robotic probes. In the present study, we developed, tested and optimized methods where fluorescence spectroscopy is accompanied by machine learning (supervised and unsupervised neuronal networks of different architecture) as well as other methods such as k-means clustering and parallel factor analysis (PARAFAC).

### Materials and methods

#### Samples

The compounds tested in this study can be divided into four groups: inorganic salts, low-molecular weight organic compounds, proteins and microorganisms (hydrothermal vent bacteria).

Table 1. Sample classes (including examples) that were included in this study.

Group (examples)	Concentration range
<b>Inorganic compounds:</b> ammonium persulfate (NH <sub>4</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> ), calcium chloride (CaCl <sub>2</sub> ), calcium sulfate (CaSO <sub>4</sub> ), copper (II) sulfate (CuSO <sub>4</sub> ), dipotassium phosphate (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ), iron (II) sulfate (FeSO <sub>4</sub> ), magnesium sulfate (MgSO <sub>4</sub> ), sodium sulfide (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ), sodium thiosulfate (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	10 <sup>-6</sup> M - 10 <sup>-1</sup> M
<b>Organic compounds:</b> L-tryptophan, L-phenylalanine, L-arginine, L-histidine, L-alanine, ATP, FAD, NADH, riboflavin, pyridoxine hydrochloride, chlorophyll A.	10 <sup>-8</sup> M - 10 <sup>-2</sup> M
<b>Proteins:</b> human hemoglobin, human serum albumin, bacteriorhodopsin from <i>Halobacterium salinarum</i>	10 <sup>-8</sup> -10 <sup>-4</sup> M
<b>Microorganisms:</b> <i>Thiobacillus thioparus</i> DSMZ Ref. 5369 and <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> DSMZ Ref. 585	10 <sup>0</sup> -10 <sup>9</sup> CFU/mL

For each sample group, different mixtures of the compounds within a broad range of concentrations were prepared and examined (Tab.1). Inorganic and organic samples were diluted using ultrapure water. For the proteins and microorganisms, phosphate buffered saline (pH 7.4, 280 mosm) served as an aqueous medium.

*Fluorescence spectroscopy measurements* were performed using the FP-8500 device from Jasco Co. (Japan) since this data acquisition technique can fulfil most of the previously declared methodological criteria. By measuring the characteristic emission of a sample for given excitation wavelength range, a spectroscopic dataset containing a spectral fingerprint in a form of an excitation-emission matrix (EEM) was obtained. The measurement settings were based on the manufacturer recommendations (5 nm bandwidth; 10 msec response time).

*Data pre-processing:* The raw measurement data were imported as ASCII by a batch script. All further processing of the data (normalization, background correction, and removing Rayleigh

scattering signals) were performed in Matlab® software package (MathWorks, Inc.). If needed, the data were additionally formatted to fit the requirements from the artificial neuronal networks and the toolboxes used (SOM, k-means, PARAFAC and FNN).

*SOM analysis:* After acquisition and pre-processing, the samples were used as input vectors for a Kohonen self-organizing map (SOM). For a detailed description of the procedure steps, please refer to an excellent tutorial by Bieroza et al. [1]. Briefly, a SOM translocates high-dimensional data into a quantized two-dimensional image. The distance between the items in the two-dimensional data reflects the similarities between the data [2].

*Feedforward Neural Networks:* The second learning algorithm used, besides SOMs, was an FNN (Feedforward Neural Network) with a binary class output. The network was designed in Matlab® to classify the chemical species and was trained using EEMs.

*K-means clustering:* After the labeling of the SOM-generated values in this study, as described by J. Vesanto et al. [3], k-means were produced in order to group the samples based on similarity factors.

*Parallel factor analysis (PARAFAC)* was also applied within the Matlab® environment (using the N-Way toolbox) and actually represents an extension of the principle component analysis and is based on the trilinear model by generalizing idea of parallel profiles factor rotation. Essentially, PARAFAC is applied to resolve matrices into unique singular components, i.e. it can decompose an EEM of a mixture into the EEMs of its constituents.

## Results and discussion

As an important output of the study we consider a created database of fluorescence signatures, including concentration-dependencies (Fig. 1).

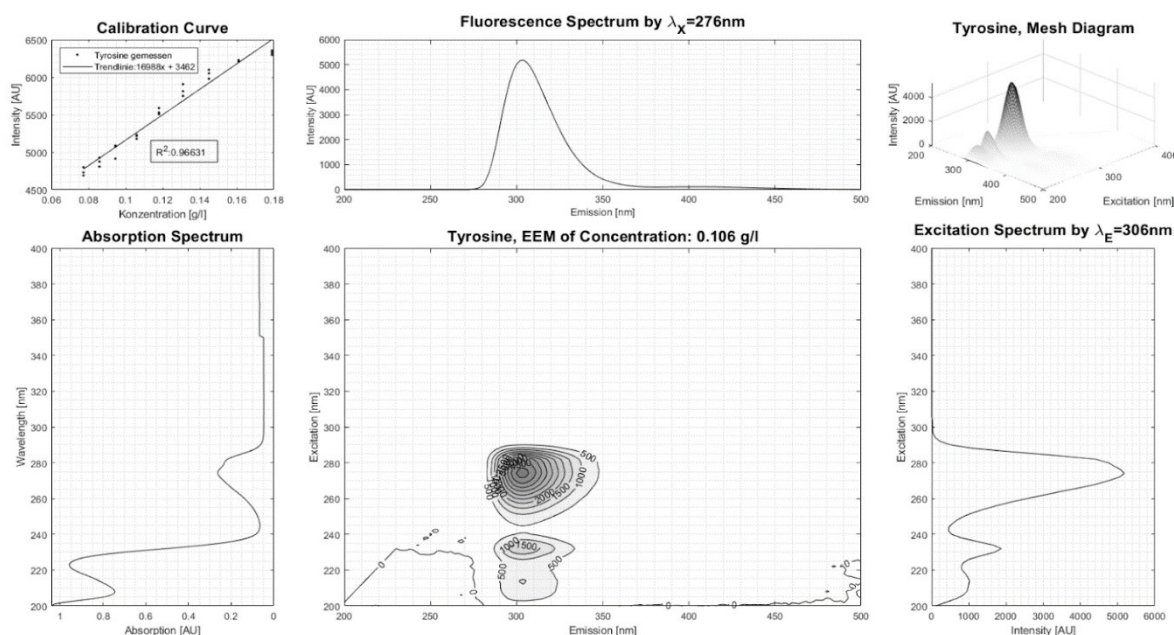


Figure 1. One of the numerous fluorescence profile records created in the frames of the study and supposed to be used by machine-learning algorithms.

The further SOM processing applied on different sets of data readily revealed differences in fluorescence signatures, as exemplified in **Fig. 2**.

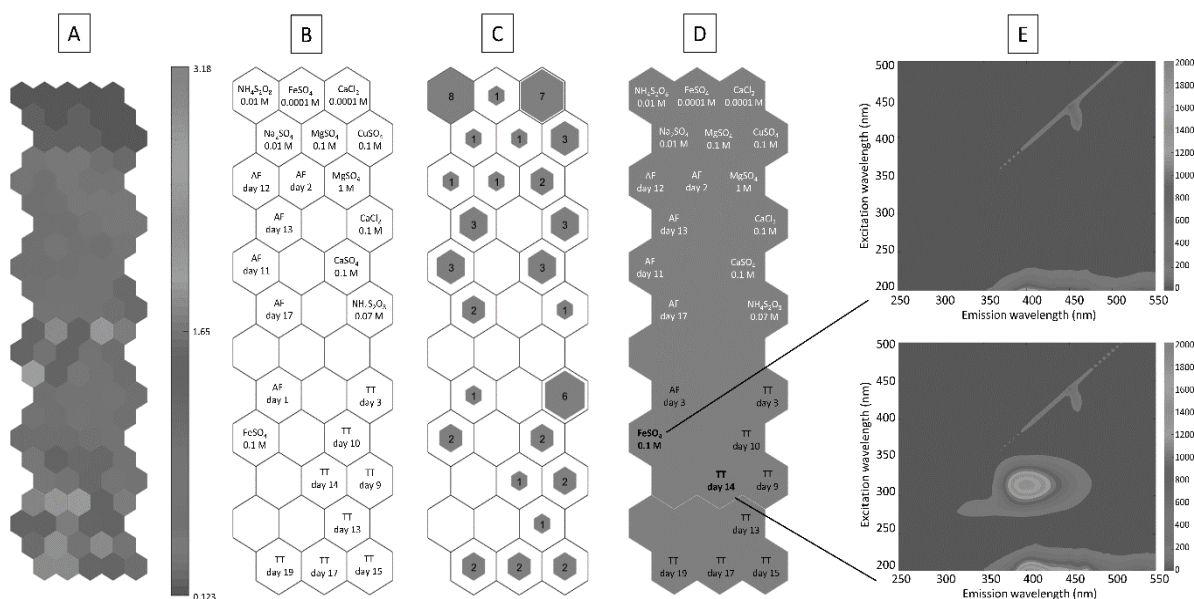


Figure 2A. Initial dataset of some inorganic substances with “walls” and “valleys” of different similarity,. B: Respective sample distribution obtained by assigning similar samples into valleys. C: 12x3 histogram showing sample hits per cell. D: k-means clustering revealing spectral similarity between samples unambiguously. E: exemplary EEMs of ferrous sulfate and Thiobacillus thioparus samples

The shown dataset represents a (simplified) typical composition of seawater found at a hydrothermal vent and represents a significant challenge for deconvolution and interpretation of the measured data. The k-means clustering helped significantly during the interpretation process, having divided the map into distinct regions. Two major benefits of clustering the SOM prototype vectors were noise reduction the decrease in calculation time, since the amount of input vectors presented to the k-means algorithm decreases to the number of nodes in the SOM. Correspondingly, the quantization low error of 0.3 was achieved because the prototype vectors of the input data did not need to be fit as much as it was for the 12x3 map.

In turn, processing of fluorescence data obtained from mixtures of different compounds (such as ATP, NADH and FAD) by PARAFAC-module allowed the neural network to successfully identify and report individual compounds.

### Conclusions

By using fluorescence spectroscopy accompanied with SOM and k-means clustering, it was possible to distinguish between different dissolved compounds in an autonomous manner. Also, the compounds could be successfully classified due to differences in the pattern of their intrinsic fluorescence. Our findings preliminary support the idea that an automatized fluorescence system possesses high potential for the identification and characterization of environmental samples. For further validation and proof of the performance of the tools, more complex mixtures of compounds will need to be acquired and processed by the presented algorithms.

### References

- 1 M. Bieroza, M. Baker and J. Bridgeman, "Exploratory analysis of excitation-emission matrix fluorescence spectra with self-organizing maps - a tutorial," *Education for Chemical Engineers*, vol. 7, no. 1, pp. 22-31, 2012.
- 2 T. Kohonen, *Matlab Implementations and Applications of the Self-Organizing Map*, Helsinki, Finland: Unigrafia Oy, 2014.

3 J. Vesanto and E. Alhoniemi, "Clustering of the Self-Organizing Map," *IEEE Transactions on Neural Networks*, no. 11, pp. 586-600, May 2000.

UDC 579.64

## THE PLANT MICROBIOME IN SUSTAINABLE AGRICULTURE

D. Egamberdieva<sup>1,2</sup>, J. Alimov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Centre for Agricultural Landscape Research, Müncheberg, Germany

<sup>2</sup>Faculty of Biology, National University of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;  
e-mail: egamberdieva@yahoo.com

Plant and soil microbiome has been extensively used for improvement of plant growth, stress tolerance, and soil productivity under various abiotic stress conditions (Cho et al. 2015). Plant rhizosphere is a nutrient rich ecosystem for microbes, where they colonize and use nutrients and proliferate. It is reported that plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) are able to colonize the rhizosphere, the root surface, or even superficial intercellular spaces of the plants and facilitate to develop a beneficial association with the plants. The microbial composition in the rhizosphere is diverse and differs greatly from one plant species to another (Lugtenberg et al. 2001). They contribute in soil nutrient mineralization making them available for plant uptake, through maintaining biogeochemical cycle. These microbes have various adaptation strategies to drought and salt stress through diverse physiological acclimation mechanisms (Mendes et al. 2013). There are many reports on the diversity of salt tolerant plant beneficial bacteria which include various species such as *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* and *Streptomyces* (Choudhary et al. 2015). Over the past decades, plant associated microorganisms have been utilized for enhanced plant growth and resistance to versatile abiotic stresses such as drought, salinity and temperature maintaining agricultural productivity. It is believed that PGPR effect on plant growth and physiology directly or indirectly through several mechanisms. Increased nutrient uptake by plants inoculated with effective bacteria has been attributed to the production of plant growth regulators by the bacteria at the root interface, which stimulated root growth and facilitated greater absorption of water and nutrients from the subsoil. The traits include the production of phytohormones such as auxins and gibberellins, production of low molecular weight organic acids and exopolysaccharides, production of siderophores, synthesis of osmoprotectants, exopolysaccharides, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase (Cho et al. 2015; Egamberdieva et al. 2011, 2019), modulation of antioxidant enzymes antagonism against phytopathogens and synthesising cell wall degrading enzymes such as pectinase,  $\beta$ -1,3-glucanase, and chitinase. Plant hormones play an important role in plant physiology, such as seed germination, root formation, root elongation, and blossom formation. IAA is the most abundant naturally occurring auxin with a well-documented ability to regulate many aspects of plant development. PGPR also synthesize extracellular enzymes such as cellulase, protease, pectinase, which play a vital role in plant protection against phytopathogens. Others have indirect roles protecting the plant against soil-borne diseases, which are mainly caused by pathogenic microorganisms, maintaining nutrients availability to plants and upregulation of antioxidant enzymes which protect plants from oxidative stress. Root associated microbes produce EPS which contain glucose, galactose and mannose, helping them to survive in extreme soil conditions. The genera *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Ochromobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* and *Streptomyces* are among the most beneficial and commonly used for improving the yield of agricultural crops under saline conditions. The microbial inoculants also modify physiological processes in plants, e.g. biosynthesis of organic acids, soluble sugars, antioxidant enzymes. Other important activities root associated bacteria use in plant growth stimulation and stress tolerance are modulation of proline synthesis, activation of plant defense mechanisms reducing the toxicity of reactive oxygen species.

The inoculation of plants with beneficial microbes increase root system, root hairs thereby improve water uptake under extreme conditions. Plant growth promoting microorganisms from extreme conditions show diverse mechanisms of survival and abilities to improve the soil productivity and growth in adverse conditions. These microbes need to be explored and utilized in agro-ecosystems, particularly those facing the impact of abiotic stresses. These microbes have a great biotechnological potential to improve soil productivity and plant health under various soil conditions.

УДК 574.5

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *ANKISTRODESMUS SP. B-11*

Д.Н. Маторин<sup>1</sup>, А.А. Алексеев<sup>2</sup>, Н.Р. Акмуханова<sup>3</sup>, М.М. Тореханова<sup>3</sup>, А.К. Садвакасова<sup>3</sup>,  
М.О. Бауенова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

<sup>2</sup>Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова, Якутск

<sup>3</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
e-mail: [akmukhanova.nurziya@gmail.com](mailto:akmukhanova.nurziya@gmail.com)

**Абстракт.** С использованием флуориметра М-РЕА-2 показано, что ионы кадмия ингибируют электронный транспорт в фотосистеме II. Происходит уменьшение квантового выхода электронного транспорта в фотосистеме II ( $\Phi_{E0}$ ), индекса производительности ( $PI_{ABS}$ ) и увеличение рассеивания энергии ( $DI_0/RC$ ) и  $\Delta pH$ -зависимого нефотохимического тушения ( $q_E$ ). Наиболее чувствительным параметром оказался индекс производительности ( $PI_{ABS}$ ), который можно предложить для обнаружения раннего токсического действия ионов кадмия на водоросли.

**Ключевые слова:** *Ankistrodesmus sp. B-11*, ионы кадмия, фотосинтез, флуоресценция хлорофилла.

В связи с активно развивающейся антропогенной деятельностью загрязнение биосферы тяжелыми металлами приобрело глобальный характер. Кадмий относится к числу наиболее опасных тяжелых металлов для экологии. [1]. Токсичные концентрации кадмия для фотосинтезирующих организмов часто находятся в пределах нескольких мкМ. На фотосинтез растений этот металл влияет многообразно: на содержание и состав пигментов, фотосинтетический электронный поток, тилакоидную структуру, работу цикла Кальвина-Бенсона. Предполагают, что указанные концентрации кадмия действуют на фотосинтез на уровне фотосистемы (ФСII), ингибируя выделение кислорода [1]. Флуоресцентные методы оценки могут дать подробную информацию об активности фотосинтетического аппарата при токсическом действии тяжелых металлов [1-5]. Такие методы позволяют получать информацию о состоянии микроводорослей в режиме реального времени. В последнее время для оценки работы фотосинтетического аппарата высших растений и культур водорослей начинают использовать методы измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением [2-4]. В работе были изучены изменения параметров флуоресценции хлорофилла в клетках *Ankistrodesmus sp. B-11* в присутствии в среде различных концентраций ионов кадмия.

### Материалы и методы исследования

Одноклеточная культура *Ankistrodesmus sp. B-11* выращивалась при освещении 3-5 тыс. люкс и температуре 22°C. В опытах кадмий использовали в виде соли  $CdSO_4 \cdot 8H_2O$  (фирма ОАО реактив, Россия) и водоросли в фазе логарифмического роста (4-7 суток) на 10 % среде Прата для предотвращения связывания токсиканта.

Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла измеряли с помощью прибора Multi-function Plant Efficiency Analyser (M-PEA-2, Hansatech Instruments, Великобритания) [3]. Регистрацию флуоресценции производили при красном свете (интенсивность 1500 мкЕ/(м<sup>2</sup>с), 625 нм) Характеристики и протокол измерений на M-PEA-2 подробно описан ранее [3]. Для количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза на основе ОЛР параметров индукционной кривой, был использован так называемый ЛР-тест [2-4]. На основании ЛР-теста рассчитаны следующие параметры:  $F_v/F_M$  – Максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в открытых реакционных центрах (РЦ) ФС II:  $F_v/F_M = \phi_{P_0}$ ;  $V_J$  – Относительная амплитуда фазы О-*J*, отражает количество закрытых РЦ;  $V_I$  – Относительная амплитуда фазы О-*I*;  $\phi_{E_0}$  – Квантовый выход электронного транспорта;  $DI_0/RC$  – общее количество энергии, рассеиваемой одним реакционным центром (RC) в виде тепла;  $ABS/RC$  – Поток энергии, поглощаемый одним активным реакционным центром (РЦ), характеризует относительный размер антенны (ABS);  $PI_{ABS}$  – Индекс производительности, показатель функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии;  $q_E$  – Способность к рН-индуцированному нефотохимическому тушению флуоресценции.

#### Результаты исследований и обсуждение

Проведенные исследования *Ankistrodesmus sp. B-11* показали, что максимальный квантовый выход первичных фотохимических реакций  $F_v/F_M$  ( $\phi_{P_0}$ ) у контрольных клеток находился на уровне 0.6 (табл. 1). В присутствии соли кадмия в концентрациях 0.05 и 0.2 мг/л уже через сутки инкубации происходило снижение этого параметра. Следует отметить, что при кратковременной (24 ч) инкубации водорослей с кадмием отсутствовало влияния этого металла на пигментный аппарат.

Для детальной оценки изменений фотосинтетической активности в клетках *Ankistrodesmus sp. B-11* были измерены индукционные параметры быстрой флуоресценции. В присутствии в среде соли кадмия менялась форма кривой О-*J*-*I*-*P* и наблюдалось снижение вклада фотохимической фазы *J*-*I*-*P*, что свидетельствует о нарушении потока электронов от ФСII в пул хинонов (табл.1) [4, 5]. Квантовый выход электронного транспорта в ФСII ( $\phi_{E_0}$ ) у клеток в присутствии ионов кадмия снижен. То есть одно из первых мест действия кадмия локализовано на акцепторной части ФС II. Увеличение О-*J*-фазы, приводит к возрастанию параметра  $V_J$ , что указывает на увеличение доли  $Q_B$  невозстанавливающихся РЦ от ФСII. Фаза II (3-30 мс) соответствует восстановлению пула PQ, а параметр  $V_I$  является хорошим индикатором состояния редокс-состояния пула PQ в темноте [4]. Обнаружено, что в присутствии ионов кадмия не наблюдалось изменений этого параметра, что указывает на отсутствие влияния металла на наличие окисленных молекул PQ сайта  $Q_B$  у водорослей.

Таблица 1. Параметры ОЛР-теста индукционной кинетики флуоресценции микроводорослей *Ankistrodesmus sp. B-11* при действии различных концентраций кадмия через 24 часа инкубации. Звездочками (\*) обозначены статистически значимые различия от контрольной группы при р-уровне значимости  $P < 0,05$ .

	Контроль	0,05 мг/л	0,2 мг/л
$F_v/F_M$	0.6±0.02	0.52±0.03*	0.46±0.02*
$V_J$	0.65±0.03	0.67±0.02	0.73±0.03*
$V_I$	0.86±0.03	0.86±0.04	0.89±0.04
$\phi_{E_0}$	0.21±0.01	0.17±0.02*	0.12±0.02*
$PI_{ABS}$	0.24±0.02	0.12±0.02 *	0.06±0.03 *
$ABS/RC$	3.2±0.4	4.48±0.03 *	5.1±0.2 *
$DI_0/RC$	1.29±0.04	2.14±0.05 *	2.75±0.05*
$q_E$	1.63±0.04	1.86±0.03 *	1.89±0.04*



Параметр ABS/RC, связанный с размером светособирающей антенны на реакционный центр, у клеток водорослей в присутствии кадмия увеличен относительно контроля, что связано со снижением у них доли активных РЦ, которое обусловлено нарушением биосинтеза белка D1. Параметр  $PI_{ABS}$  является обобщенным показателем функциональной активности ФСII [2]. Это параметр имеет более высокие показатели у контрольных клеток по сравнению с клетками в присутствии кадмия. Низкие показатели параметра  $PI_{ABS}$  (индекс производительности) у обработанных кадмием водорослей указывают на низкую функциональную активность ФСII, в основном из-за снижения доли активных РЦ и повышения тушения возбужденных состояний в антенне. Уменьшение эффективности передачи энергии возбуждения со светособирающего комплекса на РЦ должно сопровождаться увеличением рассеивания неиспользуемой световой энергии. Действительно, эффективность рассеивания энергии ( $DI_0/RC$ ) у клеток в присутствии кадмия находится на высоком уровне. Это коррелирует с увеличением у них  $\Delta pH$ -зависимого нефотохимического тушения  $q_E$ , которое рассчитывается по спаду флуоресценции после достижения максимума ( $q_E = (F_M - F_{6s})/F_V$ ).

Современные представления о переносе электрона по фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) предполагают последовательное участие двух фотосистем (ФСII и ФСI), при котором переносчики, восстановленные ФСII, служат донорами электронов для ФСI. Связь между ФСII и ФСI проявляется во флуоресценции хлорофилла, уровень которой зависит от редокс-состояния хинонного акцептора  $Q_A$ . Фотореакция ФСII восстанавливает  $Q_A$ , повышая уровень флуоресценции, а активность ФСI приводит к окислению  $Q_A$  и снижению флуоресценции [2]. Кинетики световой индукции переменной флуоресценции в миллисекундном диапазоне отражают изменения электронного транспорта внутри ФСII и между ФСII и ФСI [2-4].

Измерения показателей функциональной активности ФСII таких величин, как  $F_V/F_M$  (максимальный квантовый выход ФСII) и  $PI_{ABS}$  (индекс производительности) доказывает, что кадмий вызвал инактивацию ФСII, и это согласуется с данными об их токсическом действии на ФСII, полученными ранее для других фотосинтетических объектов [1]. Регистрация индукционных кривых флуоресценции, позволили выявить первичные стадии воздействия ионов кадмия на реакции фотосинтеза у водорослей *Ankistrodesmus* sp. B-11. Анализ индукционных кривых показал, что одно из первых мест действия соединений кадмия локализовано на акцепторной части ФСII между  $Q_A$  и  $Q_B$ . Уменьшение квантового выхода электронного транспорта в ФСII приводит к ингибированию значения индекса производительности ( $PI_{ABS}$ ). Этот параметр оказался более чувствительным по сравнению с  $F_V/F_M$  и может быть рекомендован в биотестировании качества воды в естественных и искусственных водоемах. Уменьшение количества активных РЦ и изменение электронного транспорта приводят к нарастанию нефотохимических потерь, связанных с увеличением квантовой эффективности рассеивания энергии ( $DI_0/RC$ ) и  $\Delta pH$ -зависимого нефотохимического тушения ( $q_E$ ). Полученные в рамках данной работы результаты могут быть использованы в ходе проведения оценки экологического состояния водных экосистем, загрязненных ионами тяжелых металлов. Работа поддержана по Гранту РФФИ N20-04-00465.

### Литература

1 Joshi M.K., Mohanty P. Chlorophyll a Fluorescence as a Probe of Heavy Metal Ion Toxicity in Plants // George C. Papageorgiou and Govindjee (Eds): Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. 2004. P. 637–661. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_25)

2 Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis

and Respiration; Papageorgiou, G., Govindjee, Eds.; Springer: Dordrecht // The Netherlands. 2004. V. 19. P. 321–362.

3 Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей. М: Ижевск ИКИ-РХД. 2012. 256 с.

4Lazár D., Schansker G. Models of chlorophyll a fluorescence transients // Photosynthesis in silico. Springer Netherlands. 2009. P. 85-123.

5Заядан Б.К., Маторин Д.Н. Биомониторинг водных экосистем на основе микроводорослей. М.: Изд-во "Альтекс". 2015. 252 с.

UDC 577.29

## **REALIZING THE POTENTIAL OF MICROALGAE FROM A MOLECULAR GENETICIST'S APPROACH**

H. Balouch, B.K. Zayadan

*Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan  
e-mail: huma@comsats.org*

The exploitation of phytoplanktons has been practiced since ancient period and continues to be central to numerous modern biotechnological processes, in particular recovering nutrients from agricultural run-off and wastewaters [1]. These unicellular photosynthetic eukaryotes not only serve as initial producer of aquatic food webs but also play a very critical role in maintaining the ecological balance of biosphere by secreting metabolic products such as extracellular enzymes, antimicrobial compounds, antioxidants, and bioenergy-based products [2-4]. With the current trend towards conservation and sustainable resource management, there is renewed interest in exploring microalgae for biofuel production, bioremediation, value-added animal products, cosmaceutical and biodegradable industrial products such as bioplastic [5-7]. Recent advancements in molecular biology, biomolecular engineering, informatics, and other related sciences has greatly facilitated scientists for tapping the maximum potential of microalgae with applications ranging from drug development, agriculture, industry, to bioenergy and sustainable environment [8-9].

The polyphyletic origin and diversification of microalgae over the evolutionary times, accounts for diverse morphologies and wide range of metabolic and enzymatic adaptations allowing them to inhabit diverse ecological niches [10-13]. Many of the microalgal species are capable of living in extreme conditions of temperature, pH, and alkaline saline conditions among others, which has led to various modifications in its biomolecules or emergence of new metabolic pathways [14]. A number of novel bioactive secondary metabolites with enormous therapeutic and nutraceutical potential are being produced by manipulating the microalgae metabolic pathways [15]. Microalgae and Cyanobacteria considerably recognized for producing secondary metabolites belong to the genera *Botryococcus*, *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Chlorococum*, *Dunaliella*, *Nannochloropsis*, *Neochloris*, *Scenedesmus*, *Tetraselmis*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Spirogyra*, *Spirulina*, and *Synechococcus* [16-18].

The comprehensive understanding of the ecological role and deeper exploration of biotechnological potential of microalgae in areas of basic, applied and industrial research requires the exploration and interactive analyses of both proteomes and genomes of microalgae. Microalgae genome contains many diversified genes and proteins with important physiological functions, that provide insight into evolutionary aspects of development of novel features of multicellular lineages as well as provides a variety of genetic and metabolic engineering targets and strategies for focused efforts to improve the productivity and cellular content of metabolites, such as Silacidins, silicon-binding proteins, recently identified in *T. pseudonana*; the death-specific gene (ScDSP), recently identified in *Skeletonema costatum* [19], potentially be used as marker for programmed cell death

(PCD) processes; PUFA biosynthetic novel genes such as elongase (from *Isochrysis* sp.) and  $\Delta 5$ -desaturase (from *Pavlova* sp) [20].

In addition, studies of features that are unique to microalgae (e.g., metabolic diversity, neutral lipid accumulation under environmental stress, prevalence of unique gene families, episomal replication capacity, insertion sequences at multiple sites of chloroplast genome) can prove useful in many applications [21-22]. Producing recombinant proteins in Microalgae from chloroplast by heterologous gene expression, with ability to process polycistronic transcription also affords a new perspective for the development of therapeutic proteins, industrial production of primary and secondary metabolites, and industrial enzymes [23-24]

A remarkable feature in the evolution history of microalgae is its polyphyletic origination with mosaic genome derived from photosynthetic organisms, heterotrophic eukaryotes and bacteria. Three driving evolutionary forces, endosymbiosis; vertical gene transfer and horizontal gene, behind this genetic mosaicism led microalgae to adapt to a myriad of different environments [25].

The use of microalgae as a genetically tractable model system for gene knock-out studies holds the potential to provide novel insights into novel pathways of biotechnological importance and in understanding of algal-driven ecological processes [26]. In-depth exploration of the functionality of deleted genes and of genome-wide association studies could also provide possible explanation of biological processes from an evolutionary perspective, if it is an ancestral feature or a derived and adapted feature that originated later in response to the needs of organism.

The past decade has witnessed a revolution in genome sequencing technology (i.e. next-generation sequencing; NGS) that have had substantial impacts on the fields of ecology, evolution, and conservation. Relative to frequently used small sets of neutral, anonymous markers such as mitochondrial DNA and/or tens of microsatellite markers, Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) have proven good predictors of genome-wide diversity and/or evolutionary potential [27]. NGS technologies (high-throughput, massively parallel sequencing) are being rapidly adopted as an important and rapid molecular tool from an environmental perspective to identify and quantify microalgae from environmental samples for bio-indication and bio-monitoring [28].

Further extensive comparative genomic studies of microalgae using thousands of SNPs markers generated from next-generation sequencing (NGS), will help molecular geneticists to provide answers to many unresolved questions and draw useful inferences related to ecology, population genetics, and conservation genetics, such as estimation of genetic variation within individuals and populations of microalgae whose dominance or expansion in the community has resulted in alteration of ecosystem function; adaptive history of genotype to better understand the mechanisms and identify key factors for economically relevant biological processes within microalgae; correlation between markers and phenotypic traits important for adaptation; what the balance is between natural selection, gene flow and genetic drift of microalgae?; how does the population size and meta-population dynamics of microalgae affect its neutral and adaptive genetic variation?; and how many genes, and of what function, differentially express under certain environmental change?.

To define the functions of essential genes in microalgae, both genome data and a means to edit the genome are indispensable. CRISPR/Cas (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins) system using guide RNAs (gRNAs) emerged as a reliable and facile genome editing tool for metabolic engineering revealing revolutionary impacts on agriculture, pharmaceuticals, and environmental systems [29-30]. gRNAs can be easily synthesized based on reference genome sequences to facilitate targeted modifications at any genomic locus [31].

Successful application of Cas9-driven type II system in microalgae significantly accelerating transgenic manipulation is found to be its one of the promising potential as a model system for studying manifestation of particular gene functions and developing industrial traits [32]. Using microalgae for alternative rapid development of therapeutic molecules, biofuels, and recombinant proteins will undoubtedly have revolutionary impacts on genetics, evolutionary, ecological, and industrial research, which will radically alter our understanding of model organisms with heretofore

unimaginable speed. Gene transformation techniques such as microparticle bombardment, electroporation, *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation (ATMT), glass beads vortexing, and agitation with silicon carbide (SiC) whiskers (camilo) are currently being used for microalgae [33]. However, the transformation efficacy varies with species variation in morphology, such as thickness and composition of membrane and diameter of cell, so a variety of microalgae species.

The first study on CRISPR-Cas9-mediated genome editing in microalgae was published in 2014 [34]. Since then considerable effort has been made to determine the more efficient combination of different strategies and methods for transformation of microalgae cells with CRISPR systems. Recent studies on the use of CRISPR-Cas9 for genome engineering and manipulation of metabolic pathways in microalgae such as *Chlamydomonas reinhardtii* [35], *Nannochloropsis oceanica* [36], *Nannochloropsis gaditana* [37], *Chlorella vulgaris* [38], *Dunaliella salina* [39], *Volvox carteri* [40], *Phaeodactylum tricornutum* [41] and *Thalassiosira pseudonana* [42], compliments the advances in molecular biology tools and also facilitated our understanding on synthetic biological systems that that would contribute to the acceleration of algae-based sustainable biofuel production.

Nowadays, researchers are focusing on modifying the preferable endogenous genes of microalgae aimed at altering the chain length of fatty acid products by adjusting overexpression and down-regulation of genes of key enzymes involved in fatty acid synthesis pathway [43]. These developments would facilitate to build whole new metabolic pathways to increase the economical yield of third generation biofuels derived from algal biomass.

### *References*

- 1 Hamed I. The evolution and versatility of microalgal biotechnology: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016.15(6):1104-23.
- 2 Martínez Andrade K., Lauritano C., Romano G., Ianora A. Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties. *Mar. Drugs*. 2018. No. 16. P. 165.
- 3 Bhalamurugan G.L., Valerie O., Mark L. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. *Environ. Eng. Res*. 2018. No. 23. P. 229–241.
- 4 Falaise C, François C, Travers MA, Morga B, Haure J, Tremblay R, Turcotte F, Pasetto P, Gastineau R, Hardivillier Y, Leignel V, Mouget JL. Antimicrobial Compounds from Eukaryotic Microalgae against Human Pathogens and Diseases in Aquaculture. *Mar Drugs*. 2016. No. 14(9). P. 159.
- 5 Barone GD, Ferizović D, Biundo A, Lindblad P. Hints at the Applicability of Microalgae and Cyanobacteria for the Biodegradation of Plastics. *Sustainability*. 2020. No. 12(24). P. 10449.
- 6 RATH B. Microalgal bioremediation: current practices and perspectives. *Journal of Biochemical Technology*. 2012. No. 3(3). P. 299-304.
- 7 Pulz O, Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*. 2004. No. 65(6). P. 635-48.
- 8 Mostafa SS. Microalgal biotechnology: prospects and applications. *Plant science*. 2012. No. 12. P. 276-314.
- 9 Camacho F, Macedo A, Malcata F. Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review. *Marine drugs*. 2019. No. 17(6). P. 312.
- 10 Malavasi V, Soru S, Cao G. Extremophile Microalgae: the potential for biotechnological application. *Journal of Phycology*. 2020. No. 56(3). P. 559-73.
- 11 Mathieu-Rivet E, Mati-Baouche N, Walet-Balieu ML, Lerouge P, Bardor M. N-and O-Glycosylation Pathways in the Microalgae Polyphyletic Group. *Frontiers in Plant Science*. 2020. 11.
- 12 Leliaert F, Smith DR, Moreau H, Herron MD, Verbruggen H, Delwiche CF, De Clerck O. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical reviews in plant sciences*. 2012. No. 31(1). P. 1-46.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

- 13 Chen F, Mackey AJ, Stoeckert Jr CJ, Roos DS. OrthoMCL-DB: querying a comprehensive multi-species collection of ortholog groups. *Nucleic acids research*. 2006. No. 34(suppl\_1). P. 363-8.
- 14 Patelou M, Infante C, Dardelle F, Randewig D, Kouri ED, Udvardi MK, Tsiplakou E, Mantecón L, Flemetakis E. Transcriptomic and metabolomic adaptation of *Nannochloropsis gaditana* grown under different light regimes. *Algal Research*. 2020. No. 45. P. 101735.
- 15 Yu WL, Ansari W, Schoepp NG, Hannon MJ, Mayfield SP, Burkart MD. Modifications of the metabolic pathways of lipid and triacylglycerol production in microalgae. *Microbial cell factories*. 2011. No. 10(1). P. 1-1.
- 16 Márquez-Rocha FJ, Palma-Ramírez D, García-Alamilla P, López-Hernández JF, Santiago-Morales IS, Flores-Vela AI. Microalgae Cultivation for Secondary Metabolite Production. In *Microalgae-From Physiology to Application 2019*. IntechOpen.
- 17 Sathasivam R, Radhakrishnan R, Hashem A, Abd\_Allah EF. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi journal of biological sciences*. 2019. No. 26(4). P. 709-22.
- 18 Singh R, Parihar P, Singh M, Bajguz A, Kumar J, Singh S, Singh VP, Prasad SM. Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: current status and future prospects. *Frontiers in microbiology*. 2017. No. 8. P. 515.
- 19 Parker MS, Mock T, Armbrust EV. Genomic insights into marine microalgae. *Annual review of genetics*. 2008. No. 42. P. 619-45.
- 20 Thiagarajan S, Arumugam M, Kathiresan S. Identification and functional characterization of two novel fatty acid genes from marine microalgae for eicosapentaenoic acid production. *Applied biochemistry and biotechnology*. No. 190(4). P. 1371-84.
- 21 Ghribi M, Nouemssi SB, Meddeb-Mouelhi F, Desgagné-Penix I. Genome Editing by CRISPR-Cas: A Game Change in the Genetic Manipulation of *Chlamydomonas*. *Life*. 2020. No. 10(11). P. 295.
- 22 Larrea-Alvarez M, Purton S. Multigenic engineering of the chloroplast genome in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Microbiology*. 2020. No. 166(6). P. 510.
- 23 Rasala BA, Muto M, Lee PA, Jager M, Cardoso RM, Behnke CA, Kirk P, Hokanson CA, Crea R, Mendez M, Mayfield SP. Production of therapeutic proteins in algae, analysis of expression of seven human proteins in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant biotechnology journal*. 2010. No. 8(6). P. 719-33.
- 24 Rasala BA, Muto M, Sullivan J, Mayfield SP. Improved heterologous protein expression in the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* through promoter and 5' untranslated region optimization. *Plant biotechnology journal*. 2011. No. 9(6). P. 674-83.
- 25 Nowack EC, Weber AP. Genomics-informed insights into endosymbiotic organelle evolution in photosynthetic eukaryotes. *Annual review of plant biology*. 2018. No. 69. P. 51-84.
- 26 Gudmundsson S, Agudo L, Nogales J. Applications of genome-scale metabolic models of microalgae and cyanobacteria in biotechnology. In *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts 2017*. (pp. 93-111). Woodhead Publishing.
- 27 Casabianca S, Cornetti L, Capellacci S, Vernesi C, Penna A. Genome complexity of harmful microalgae. *Harmful algae*. 2017. No. 63. P. 7-12.
- 28 Derocles SA, Bohan DA, Dumbrell AJ, Kitson JJ, Massol F, Pauvert C, Plantegenest M, Vacher C, Evans DM. Biomonitoring for the 21st century: integrating next-generation sequencing into ecological network analysis. *Advances in ecological research*. 2018. No. 58. P. 1-62.
- 29 Zhang L, Zhou Q. CRISPR/Cas technology: a revolutionary approach for genome engineering. *Science China Life Sciences*. 2014. No. 57(6). P. 639-40.
- 30 Liu L, Fan XD. CRISPR–Cas system: a powerful tool for genome engineering. *Plant molecular biology*. 2014. No. 85(3). P. 209-18.
- 31 Robb GB. Genome Editing with CRISPR-Cas: An Overview. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*. 2019. No. 19(1):P. 36.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

- 32 Jiang WZ, Weeks DP. A gene-within-a-gene Cas9/sgRNA hybrid construct enables gene editing and gene replacement strategies in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Algal research*. 2017. No. 26. P. 474-80.
- 33 Doron L, Segal NA, Shapira M. Transgene expression in microalgae—from tools to applications. *Frontiers in plant science*. 2016. 7:505.
- 34 Jiang W, Brueggeman AJ, Horken KM, Plucinak TM, Weeks DP. Successful transient expression of Cas9 and single guide RNA genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryotic cell*. 2014. No. 13(11). P. 1465-9.
- 35 Kim J, Lee S, Baek K, Jin E. Site-specific gene knock-out and on-site heterologous gene overexpression in *Chlamydomonas reinhardtii* via a CRISPR-Cas9-mediated knock-in method. *Frontiers in plant science*. 2020. No. 11. P. 306.
- 36 Wang Q, Gong Y, He Y, Xin Y, Lv N, Du X, Li Y, Jeong BR, Xu J. Genome engineering of *Nannochloropsis* with large deletions for constructing microalgal minigenomes. *bioRxiv*. 2020.
- 37 Ajjawi I, Verruto J, Aqui M, Soriaga LB, Coppersmith J, Kwok K, Peach L, Orchard E, Kalb R, Xu W, Carlson TJ. Lipid production in *Nannochloropsis gaditana* is doubled by decreasing expression of a single transcriptional regulator. *Nature biotechnology*. 2017. No. 35(7). P. 647-52.
- 38 Lin WR, Ng IS. Development of CRISPR/Cas9 system in *Chlorella vulgaris* FSP-E to enhance lipid accumulation. *Enzyme and microbial technology*. 2020. No. 133P. 109458.
- 39 Gao LJ, Jia YL, Li SK, Qiu LL. Characterization of novel nitrate reductase-deficient mutants for transgenic *Dunaliella salina* systems. *Genetics and Molecular Research*. 2015. No. 14(4). P. 13289-99.
- 40 Ortega-Escalante JA, Jasper R, Miller SM. CRISPR/Cas9 mutagenesis in *Volvox carteri*. *The Plant Journal*. 2019. No. 97(4). P. 661-72.
- 41 Serif M, Dubois G, Finoux AL, Teste MA, Jallet D, Daboussi F. One-step generation of multiple gene knock-outs in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* by DNA-free genome editing. *Nature communications*. 2018.No. 9(1). P. 1-0.
- 42 Nawaly H, Tsuji Y, Matsuda Y. Rapid and precise genome editing in a marine diatom, *Thalassiosira pseudonana* by Cas9 nickase (D10A). *Algal Research*. 2020. No. 47. P. 101855.
- 43 Jagadevan S, Banerjee A, Banerjee C, Guria C, Tiwari R, Baweja M, Shukla P. Recent developments in synthetic biology and metabolic engineering in microalgae towards biofuel production. *Biotechnology for biofuels*. 2018. No. 11(1). P. 1-21.

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

**СЕКЦИЯ №1.  
АСПЕКТЫ, ИННОВАЦИИ И ДОСТИЖЕНИЯ  
БИОТЕХНОЛОГИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**SECTION №1.  
ASPECTS, INNOVATIONS AND ACHIEVEMENTS OF  
ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY**



UDC 68.05.45

## ASSESSMENT OF TRANSFER OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS FROM SOIL TO AGRICULTURAL ANIMALS

F. Amutova<sup>1,2,3</sup>, G. Konuspayeva<sup>2,3</sup>, A. Ahatzhanova<sup>2</sup>, M. Nurseitova<sup>2,3</sup>, S. Jurjanz<sup>1</sup>, M. Delannoy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>URAFPA, University of Lorraine-INRAE, Vandoeuvre, France

<sup>2</sup>Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

<sup>3</sup>LLP Scientific and Production Enterprise Antigen, Almaty region, Kazakhstan

e-mail contact: amutovafb@gmail.com

**Abstract.** Foods of animal origin are well-known contributors of human exposure to POPs due to their lipophilicity. Soil ingestion represents in this context one of the main exposure pathways of outdoor reared animals as it acts as a POPs reservoir. That would raise the question to quantify their transfer into the food these animals would produce. Therefore, the aim of the current study was to estimate the transfer of POPs into food of animal origin using i) summarizing published knowledge on POP transfer by a meta-analysis; ii) evaluate the transfer of the emerging pesticide chlordecone (CLD) using new data of an *in vivo* study. Finally, these outcomes are used to assess the risk and, if necessary, to manage using a remediation strategy to limit their transfer.

**Key words:** *persistent organic pollutants, transfer, soil, agricultural animals*

### Introduction

Foods of animal origin are well-known contributors of human exposure to POPs due to their lipophilicity. Soil ingestion represents in this context one of the main exposure pathways of outdoor reared animals as it acts as a POPs reservoir. In such rearing practices, animals may ingest daily considerable amounts of this matrix [1]. In this frame methodologies to evaluate POP transfer from soil to food of animal origin is crucially needed as well as implementing strategies to limit it when necessary. Therefore, the aim of the current study was to estimate the transfer of POPs into food of animal origin using i) summarizing published knowledge on POP transfer by a meta-analysis; ii) evaluate the transfer of the emerging pesticide chlordecone (CLD) using new data of an *in vivo* study. Finally, these outcomes are used to assess the risk and, if necessary, to manage using a remediation strategy to limit their transfer.

### Materials and methods

Literature meta-analysis with 41 peer-reviewed articles reporting transfer of PCDD/Fs, PCBs, OCPs to food of animal origin such as milk, eggs, and edible tissues as liver, muscles and adipose fat were performed. Transfer into milk and eggs was quantified using the concept of transfer rate (TR) calculated in steady state conditions. The accumulation in body tissues was expressed as a bioconcentration factor (BCF) for body tissues. More details and equations for calculation TR and BCF were presented in our latest study [2].

Then, a laboratory study involving 24 laying hens exposed daily to chlordecone contaminated andosol (4.1 mg/kg soil corresponding to 18 µg/kg body weight daily) and nitisol (1.6 mg/kg soil corresponding to 7 µg/kg body weight daily). According to a half-life of 5-6 days [3], animals were exposed for 21 days to reach steady state and estimate CLD transfer to eggs and liver. To investigate the reducing of the transfer, andosol and nitisol were amended (2% mass basis) by two different activated carbons (ACs). New data of CLD transfer to eggs and liver were treated in the same way as in the previous meta-analysis.

### Results and discussion

#### Transfer of PCDD/Fs and PCBs (literature synthesis)

Generally, most of the studied compounds were transferred in a notable manner to the studied food materials. In details, the most toxic compounds such as 2,3,7,8-TCDD (34% and 39%), 1,2,3,7,8-PeCDD (27% and 36%), 2,3,4,7,8-PeCDF (36% and 40%) were highly transferred into milk and eggs respectively. Dioxin-like PCBs were also shown as extremely transferred with up to 50%

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

of TR for congeners 105, 114, 118, 153, 156, 157, 167, 180, 189 and up to 40% of TR for congeners 126, 148 and 169 in both milk and eggs.

Intermediate TRs into milk were demonstrated for HxCDDs (13-23%) and HxCDFs (11-20%) as well as TR into eggs for HpCDD/Fs (16-18%). In addition, the transfer of PCB congeners 28, 81 and 123 were observed to be similar into milk (9-22%). Nevertheless, hepta- and octachlorinated CDD/Fs but also congeners 52 and 101 of ndl-PCBs were transferred at less than 5% into milk. In eggs, only octachlorinated PCDD/Fs and these PCB congeners showed a relatively low transfer (< 7%).

Furthermore, bioaccumulation of PCDD/Fs and PCBs in meat of adult animals was observed to be higher than in rapidly growing animals. This tendency appeared especially when BCFs in liver, fat and muscles were compared. Indeed, comparing laying hens to broilers, mean BCFs found for PCDDs were:  $52 \pm 19$  vs  $14 \pm 5$ ,  $14 \pm 6$  vs  $2 \pm 0.9$ ,  $11 \pm 6$  vs  $1.5 \pm 0.6$  respectively for liver, fat and muscles. Moreover, mean BCFs in adipose tissue of laying hens and broilers were 11 vs 4 and 10 vs 3, respectively for PCB congeners 126 and 169.

#### **Transfer of OCPs into food**

Generally, much less data were available in the literature to investigate OCP transfer into food of animal origin.

Nevertheless, literature synthesis showed that TRs of DDTs and HCHs to chicken eggs were up to 58% and up to 32% respectively. Although DDT congeners were in general highly transferred, alpha or gamma HCH were reported to be transferred at a lesser extent. These two groups of pesticides could also accumulate in similar extent in the chicken gizzard (BCF 17 and 5), liver (BCF 15 and 16) and muscle (BCF 3 and 2).

In absence of existing knowledge on chlordecone transfer, the latest has been studied by exposure of laying hens. These birds showed very high TRs to eggs when exposed to CLD contaminated andosol or nitisol with respectively 78% and 65% (fig. 1), as well as BCFs in liver of 6 and 2 (fig. 2). Another study on ducks allow to calculate a BCF in liver of 37 [4]. Unfortunately, missing data in this study did not allow to calculate TR into eggs. The much higher BCF in their liver in comparison to our hen experiment may be explained by the low productivity of these ducks, and by consequence a low excretion of chlordecone.

#### **Risk assessment and strategies to reduce POP transfer**

These approaches allow to predict the concentrations of POPs, which would respect the MRLs in food of animal origin, and by consequence would allow to derive safe levels in soil to sustain animal rearing systems in exposed areas. In case of moderate overpassing, a strategy to reduce the transfer of POPs to animals may be implemented like using sequestration materials such as ACs. In the chlordecone context, even a relatively low CLD concentrations in soil may lead to contaminations close to MRLs in eggs. In such a frame, the studied amendment of contaminated soils allowed to decrease the transfer of CLD to chicken eggs from 65% to 45% (nitisol) and from 78% to 52% (andosol). In addition, BCF of CLD to liver reduced also from 2.4 to 1.5 (nitisol) and from 6 to 4 (andosol).

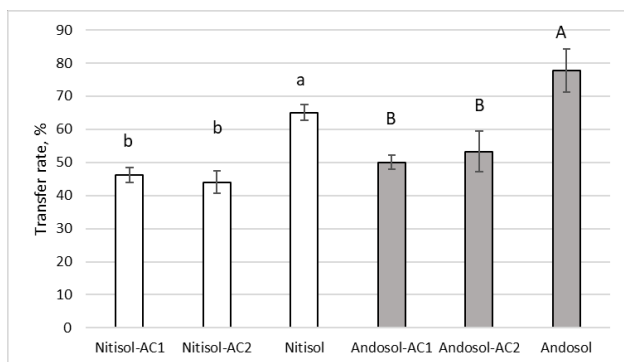


Figure 1. Transfer rates of CLD to chicken eggs

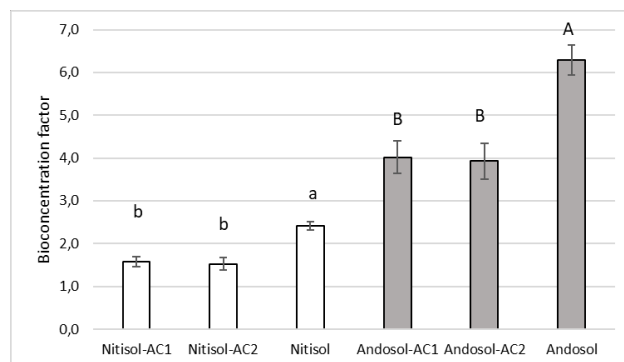


Figure 2. Bioconcentration factors of CLD to chicken liver

### Conclusions

POPs are generally highly transferred in food producing animals when they are raised on contaminated soils. Specific methodologies as TRs and BCFs allow to quantify and ranking risk focusing on food safety providing a relevant assessment. In this frame, it allows to derive safe levels in soil in order to sustain animal rearing practices in contaminated areas. When a management strategy is needed, an amendment of contaminated soils with sequestration materials like ACs may be investigated to reduce this POP transfer.

### References

- 1 Collas C., Mahieur M., Tricheur A et al. « Cattle Exposure to Chlordecone through Soil Intake. The Case-Study of Tropical Grazing Practices in the French West Indies // Sci. Total Environ., 2019 668: 161-70.
- 2 Amutova F., Delannoy M., Baubekova A. et al.. «Transfer of persistent organic pollutants in food of animal origin – Meta-analysis of published data» // Chemosphere, 2020, 262:128351.
- 3 Jondreville C, Fournier A, Mahieu M et al. «Kinetic study of chlordecone orally given to laying hens (*Gallus domesticus*)» // Chemosphere, 2014, 114:275-81
- 4 Jondreville, C., Lavigne, A., Jurjanz, S. et al. «Contamination of free-range ducks by chlordecone in Martinique (French West Indies): a field study» // Sci. Total Environ., 2014, 493, 336-41.

UDC 502.5

### ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN THE SOILS OF THE AKMOLA REGION AND THE IMPACT ON LIVING ORGANISMS

Bitmanov Ye., Abzhalelov A., Boluspaeva L., Kasymova A., L.N.Gumilyov  
Eurasian National University, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan  
*e-mail: Yertasbey@gmail.com*

**Abstract.** The thesis examines the main land problems associated with emissions of harmful substances, their impact on living organisms. The assessment of soil pollution in industrial zones is given. The thesis shows the volume of certain pollutants, and also considers measures to prevent an increase in heavy metal pollution of land resources adjacent to industrial areas.

**Keywords:** *microorganism, pollutants, heavy metals, environment.*

The problem of studying the ecological state of the urban environment is extremely relevant, since the integral features of the modern world are the concentration of population in cities, an

increase in the area of urbanized territories and an increase in the negative impact on the components of urban ecosystems [1-3].

The main reason for the deterioration of the ecological situation in urbanized areas is the ever-increasing technogenic pollution of the environment. Among the many pollutants, heavy metals (HM) are considered the most toxic. To date, there is no sufficient data on the content and level of HM accumulation in plants of urbanized territories of our republic.

The intensive development of industry and transport complex, which are the most powerful sources of pollution of the biosphere with harmful ingredients, has become a serious environmental problem over the last century. Among inorganic xenobiotics of anthropogenic origin, metals are among the most dangerous and progressively developing in the natural environment. Intensive industrial and agricultural use of natural resources caused significant changes in the biochemical cycles of most of them [4].

The release of HM into the environment is associated with vigorous human activity. Their main sources are industry, motor vehicles, boiler houses, waste incineration plants and agricultural production. The industries polluting the TM environment include ferrous and non-ferrous metallurgy, mining of solid and liquid fuels, mining and processing complexes, glass, ceramic, electrical production, etc. Lead is widely used in the production of batteries, electrical cable sheaths, medical technology, crystal, optical glass, paints, numerous alloys, etc., not to mention the production associated with its receipt. In agricultural production, soil pollution with HM is associated with the use of fertilizers and pesticides [5].

Environmental pollution with various chemical substances leads to unfavorable shifts in the state of health of the population, especially children, which is expressed in changes in physiological indicators, shifts in physical development, the occurrence of diseases and other effects. The most socially significant problem, largely ecologically conditioned, is cancer incidence [6].

The study of the consequences of the technogenic accumulation of heavy metals and anthropogenic pollution of the natural environment has now become extremely important for the health and safety of the population. Plants, being producers, constitute the main level in the food chain of any biocenosis. The accumulation of heavy metals in plant organisms leads to their accumulation in the food chain and can cause severe diseases in humans and animals, which form the consumer block [7].

Heavy metals differ from other metals by their high content in industrial waste and high toxicity, their durability and practical non-removal from the system "soil - plants - animals - humans". These metals belong to the category of nonspecific pollutants, since they are present in almost all soils in one or another amount [8].

The physiological effect of metals on the human body and animals is different and depends on the nature of the metal, the type of compound in which it exists in the natural environment, as well as its concentration. Many heavy metals exhibit pronounced complexing properties. Thus, in aqueous media, the ions of these metals are hydrated and are capable of forming various hydroxo complexes, the composition of which depends on the acidity of the solution. If any anions or molecules of organic compounds are present in the solution, then those of these metals form various complexes of different structures and stability [9].

The danger of soil pollution as a risk factor for public health is determined by its functional use. In cities, this problem is mainly associated with soil pollution with heavy metals. Hygienic studies have established quantitative relationships between the content of heavy metals in the atmospheric air and their fallout on the territory of cities, which is recorded by soil anomalies. The soil has a high sorption and storage capacity, accumulates and disturbs the geochemical information inherent in nature [10].

Methods of a research of content of harmful substances in the atmosphere and also the content of heavy metals in soils and leaves a plant have a wide range.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

According to the RSE «KAZHYDROMET» interactive map of environmental information, observations of the state of soil pollution were carried out in 102 settlements points of 14 regions of the republic and in the cities of Nur-Sultan, Shymkent, Almaty. Soil samples were taken at five points of the settlement in the spring of 2020.

Table 1. Ratio of content of elements in Nur-Sultan city between 2019 – 2020 years.

Name of an element	The average content of an element in 2019 (mg/kg)	The average content of an element in 2020 (mg/kg)
cadmium	0,61-2,11	0.02-0.4
chromium	0,87-2,66	0.004-0.01
lead	2,21-20,49	0.004-0.01
zinc	0,84-2,91	0.003-0.01

As a result of a research these maintenance of the following basic elements in industrial regions. In the city of Nur-Sultan in soil samples taken in various regions the content of cadmium was in the range of 0.02-0.4 mg / kg, lead - 0.004-0.01 mg / kg, copper - 0.005-0.1 mg / kg, chromium - 0.05-0.1 mg / kg, zinc - 0.003-0.01 mg / kg (given in table 1).

Zinc content in soil samples taken in the village of Burabay amounted to 0.0028-0.0077 mg / kg, copper - 0.0050-0.0066 mg / kg, lead - 0.0021- 0.0036 mg / kg, chromium - 0.0172-0.0530 mg / kg, cadmium - 0.0042-0.1379 mg / kg.

The high content of toxic elements in the soil and the atmosphere has negative impact on human health and therefore the question of reduction of volumes of harmful substances is always relevant.

As a result of a research it was revealed that territories, adjacent to the industrial enterprises have bad quality atmospheric air as in the contents have in bigger volume components of heavy metals.

Sources of pollutants are various, also numerous types of waste and nature of their impact on biosphere components. Biosphere becomes soiled solid waste, gas emissions and sewage steel, metalworking and engineering plants.

Measures for prevention of air pollution are such as:

- establishment of filters for production objects;
- the translation of cars from gasoline on gas;
- use of alternative energy sources;
- sorting of waste, etc.

### *References*

- 1 Lukanin V.N., Buslaev A.P., Trofimenko Yu.V. Road traffic and the environment. -M .: INFRA, 1998 - 407 p.
- 2 City ecology / Ed. N.S. Kasimov. -M .: Scientific. Mir, 2004. - 624 p.
- 3 Ecology of the city of Yoshkar-Ola: Scientific edition / Ed. O. L. Voskresenskaya. -Yoshkar-Ola, Mar. state. Univ. 2007 . - 300 p.
- 4 Kazakova N.A. soil contamination with heavy metals, Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy 1 (8). 2009 –29 p.
- 5 Warm G.A. Heavy metals as a factor of environmental pollution ”, 2013 - 182 p.
- 6 On the state and on the protection of the environment of the Orenburg region in 2010: state report. Natural Resources Committee for the Orenburg Region. - Orenburg, 2011 - 241 p.
- 7 Chikeneva IV Ecological and biogeochemical assessment of the vegetation cover of the zone of influence of the Orsk-Novotroitsk industrial hub: dis. ... Cand. Biol. Science. - Orenburg, 2009 - 174 p.
- 8 Chikeneva I. V., Abuzyarova Yu. V. Content of heavy metals in by-products of field crops under conditions of technogenic impact. - 2011. - No. 4 (32). - 282 p.

9 Kolosova I.I. Influence of lead acetate, salts of heavy metals on reproductive function, 2013 - 13 p.

10 Mukasheva M.A., Mukasheva G.Zh., Nugumanova Sh. M., Kazimova A.E., Pollution of the soil cover of the territory of an industrial city with heavy metals // Bulletin of the Chelyabinsk State University. 2013 No. 7. - S. 18-27

UDC 57.574.3

## ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF UNIQUE SODA-SALINE ECOSYSTEMS IN KAZAKHSTAN

Z.A. Inelova<sup>1</sup>, E.Boros<sup>2</sup>, Ye. G. Zaparina<sup>1</sup>, M.U. Aitzhan<sup>1</sup> B.K. Zayadan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*al-Farabi Kazakh National University, MES RK, Kazakhstan, Almaty*

<sup>2</sup>*Centre for Ecological Research, Danube Research Institute, Hungary, Budapest*

*e-mail: Zarina.Inelova@kaznu.kz*

**Abstract.** This article provides basic background information on the degree of study of soda and saline lakes in Kazakhstan. Saline lakes are unique natural ecosystems with a significant amount of mineral salts, and soda lakes are considered as a special type of such inland waters. The multidisciplinary survey and biomonitoring will make it possible to assess the ecological state, which is necessary for the wise use and management of the resources of saline-soda aquatic ecosystems in Kazakhstan.

**Key words:** *monitoring, environment, ecology, saline lakes, soda lakes, biodiversity*

On the territory of the Republic of Kazakhstan, there are more than 48 thousand lakes, of which 21 are large, with an area more than 100 km<sup>2</sup>. Most of the lakes are located in the north of Kazakhstan, in the central and southern - 36%, in other regions there are only 19% of lakes [1].

The study of the lakes located on the territory of Kazakhstan includes 3 stages. The first lasted until the early 90s of the XIX century. During this period, the lakes were considered only as a source of fishing, water transport and salt production; collected specific facts about the physical properties of the lakes. The second period covers the 90s of the XIX century. At this time, the theoretical and methodological foundations of lake studies as a science were accumulated and approved. The third period lasts from the beginning of the XX century till now. At this time, research was carried out in the interests of the economic use of their natural resources.

However, most of the lakes are still not poorly explored by ecological context. This is due to the lack of research and the lack of reliable data, low efficiency in the collection and processing of information, as well as analysis of the use of available lake resources.

Taking into account the objectives of the State Program for Water Resources Management in Kazakhstan (Decree of the President of the Republic of Kazakhstan dated 04.04.2014 No. 786), it is relevant to analyze the distribution and concretize the assessments of the quantitative and qualitative characteristics of the lakes of Kazakhstan, the resources of which, with an integrated approach, can be efficiently and effectively used in various industries economy [2].

On the territory of Kazakhstan, most of the lakes have an area of no more than 1 km<sup>2</sup>. In recent years, there has been an increase in the tendency towards instability of the area and regime of lakes, as well as the general mineralization and salt composition of waters. This is due to the variability of climatic conditions. Water and salt balance is directly related to zonal features of lakes [3, 4].

The main reason for the mineralization of lakes is the lack of runoff (closed endorheic basins) and high evaporation. Therefore, on the flat territory of Kazakhstan, there are many lakes with brackish and saline water. In the most arid regions, there are self-sedimentary lakes, which contain a significant amount of various salts in a wide range of salinity as sub-, meso and hypersaline waters.

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

At present, increased attention is paid to the study of saline and soda lakes, since the unique chemical composition of water and the diversity of life gave reason to believe that such inland waters existed in the early stages of the Earth global ecosystem origin, moreover, they serve as important natural resources with significant aesthetic, cultural, economic, recreational, scientific, environmental and ecological values [5 - 6].

In many works of foreign authors, results are presented on the study of the chemical properties of the water of saline and soda lakes, microbial and biological diversity of flora and fauna [7-12, 17, 19,].

Salt lakes are common across the Earth, but are most common in terrestrial biomes such as deserts and steppes. Kazakhstan is located in the very center of Central Asia, and therefore, in addition to environmental problems associated with unstable weather conditions, it faces the problem of lack of access to the World Ocean. More arid climate trends, longer extreme dry seasons with unpredictable precipitation distribution are the consequences of climate change and have a significant negative impact on the inland waters of the region.

On the territory of Kazakhstan, studies were also performed out to study saline and soda lakes, but most of them were aimed at studying only their chemical composition of water. For example, from 1940 to 1950, Possokhov E.V. was engaged in the study of saline lakes in Central Kazakhstan. Generalized data about them are published in the book "Salt Lakes of Kazakhstan" [13]. A group of scientists led by Filonets P.P. carried out a lot of work on the study of lakes in central, southern, northern, western and eastern Kazakhstan. They described in detail the location of more than 250 lakes, presented the results of chemical analysis of lake water for elements such as Na, K, Ca, Mg, SO<sub>4</sub> and Cl [14-15 ].

A number of research works during the 19th and first half of the 20th centuries were aimed at studying the lakes of the Alakol-Sasykkol system. For the first time, a chemical analysis of the water of Lake Alakol was carried out in 1914 by Svirchevsky, and lakes Sasykkol and Zhalanashkol - in 1927 by Terletsky B.K. [16].

In recent years, one of the foreign authors, Emil Boros, has been conducting research on a global scale to study the internal salty surface waters of Eurasia [17-18]. He performed out a number of works to study the chemical composition and trophic state of small saline steppe lakes in Northern Kazakhstan, taking into account the potential consequences of anthropogenic disturbances. Water depth, temperature, pH, electrical conductivity, basic ions, total dissolved solids, total organic carbon, total nitrogen and phosphorus, nitrates, soluble reactive phosphorus and chlorophyll a were measured. The trophic state of these lakes in most cases exceeded the hypertrophic level [19-20].

Saline lakes are extreme natural ecosystems with a significant amount of mineral salts, which are extensively integrated aquatic habitats of the steppe ecosystems. Soda lakes are also considered a special type of such multiple extreme aquatic ecosystems [21]. They are characterized by dominance of alkaline carbonates (Na-HCO<sub>3</sub>- CO<sub>3</sub>), which cause a permanent high pH level in these inland waters [17]. Despite the harsh conditions, they are inhabited by abundant, mostly prokaryotic, microbial communities [22]. Due to the high pH of the environment, soda lakes are unique habitats of extremophilic fauna and flora, for example, some characteristic microorganisms that are not found in other ecosystems [23], which indicates the need and importance of studying the biodiversity of hypersaline and hyperalkaline habitats, mechanisms of adaptation of organisms to the multiple extreme environmental conditions [21, 24].

The number of studies on soda and salt lakes, in comparison with other ecosystems, is very small in the region. Carrying out ecological assessment and biomonitoring of soda lakes will help scientists look at soda lakes from the outside, understand the similarities and differences with other ecosystems, and analyze and predict the state of the lakes in more depth. Research into soda lakes, which began in the 1920s, continues. It is necessary to combine the efforts of specialists in various fields - microbiologists, hydrobiologists, ecologists, chemists, geologists for the wise use and management of the resources of saline-soda aquatic ecosystems.

### References

- 1 Filonets P.P. Essays on the geography of inland waters of Central, Southern and Eastern Kazakhstan: (lakes, reservoirs and glaciers). – Alma-Ata: Nauka. – 1981. – 292 p. (In Russian)
- 2 State water resources management program of Kazakhstan (approved by decree of the President of the Republic of Kazakhstan). Water management in Kazakhstan. – 2014. – No 2 – P. 3-37. (In Russian)
- 3 Zhumangaliyeva Z.M. Lake Fund of Kazakhstan. – Abstract for a scientific degree, specialty 25.00.27 - land hydrography, water resources, hydrochemistry – Spb, 2014. – 159 p. (In Russian)
- 4 Beletskaya R.B. Morphometric features of lake basins and their influence on the ecological state of limnosystems: - Abstract for a scientific degree, specialty 25.00.27. – SPb., 2004. – 24 p. (In Russian)
- 5 Globally significant wetlands of Kazakhstan: Global Environment Facility Project "Integrated conservation of priority globally significant wetlands as migratory bird habitats: demonstration in three territories. – Astana, 2007. – 286 p. (In Russian)
- 6 Williams W.D. Environmental threats to salt lakes and the likely status of inland saline ecosystems in 2025 // Environmental Conservation. – 2002. – No 2. – P.154–167.
- 7 Zarubina Ye. Hydrobotany: V 5th Russian Conference on Aquatic Plants. – Borok, 2000. – P. 139–140. (In Russian)
- 8 Díte, D., Elias, P., Jr., Díte, Z., Pis, V., Suvada, R. Vegetation classification and ecology of Pannonian salt lake beds // Phytocoenologia. – 2017. – No 47 (4). – P. 329-344.
- 9 Madsen John D., Wersal Ryan M., Tyler M. and Patrick D. Gerard The Distribution and Abundance of Aquatic Macrophytes in Swan Lake and Middle Lake // Journal of Freshwater Ecology. – 2006 – Vol. 21. – No 3. – P.421-429.
- 10 Sorokin D.Y., Banciu H.L., Muyzer G. Functional microbiology of soda lakes // Current Opinion in Microbiology. – 2015. –Vol.25. – P.88-96.
- 11 Namsarev B.B., Barhutov D.D. The soda lakes of Transbaikalia is a unique ecosystem // Bulletin of the Buryat State University Biology, geography. – 2018. – No 1. – P. 82-86.
- 12 Zarubina E. Y., Durnikin D.A. Flora of salt lakes of the Kulundy plain (South of Western Siberia) // Siberian environmental journal. – 2001. – No 2. – P. 341-351.
- 13 Posokhov Ye.V. Saline lakes of Kazakhstan. – Academy of Sciences of the SSR: Moskow. – 1965. – 188 p. (In Russian)
- 14 Filonets P.P., Omarov T.R. Oзера severnogo, zapadnogo i vostochnogo Kazakhstana. – Gidrometeoizdat: L. – 1974. – P.172-186. (In Russian)
- 15 Filonets P.P., Omarov T.R. Lakes of northern, western and eastern Kazakhstan. - Hydrometeorological Publishing House: L. – 1974. – P.172-186. (In Russian)
- 16 Globally significant wetlands of Kazakhstan (Alakol-Sasykkol lake system) // edited by Burlibaeva M.Zh., Kurochkina L.Ya. and others – Astana. – 2007 – 271 p. (In Russian)
- 17 Boros, E., Kolpakova M. A review of the defining chemical properties of soda lakes and pans: An assessment on a large geographic scale of Eurasian inland saline surface waters // PLoS ONE. – 2018. – No13(8). – P.1-20.
- 18 Boros, E.,V.-Balogh, K.,Csitári, B.,Vörös, L., Székely, A.J. Macrophytes and groundwater drive extremely high organic carbon concentration of soda pans // Freshwater Biology. – 2020. – No 65(9). – P. 1555-1568.
- 19 Boros, E., Jurecska, L., Tatár, E., Vörös, L., Kolpakova, M. Chemical composition and trophic state of shallow saline steppe lakes in central Asia (North Kazakhstan) // Environmental Monitoring and Assessment. – 2017. – No 189(11). – 546 p.
- 20 Boros, E., Vörös L., Burlibajeva D., Aldiyarova A., and Narbayeva K. Salinity and trophic status of the shallow standing water bodies in the Central Asian steppe (North Kazakhstan). In: Water



supply and water management in irrigated agriculture and irrigation of pastures. Conference book. Almaty, Kazakhstan. – 2015. – P164-172.

21 Boros, E., V.-Balogh, K., Vörös, L. & Horváth, Zs. Multiple extreme environmental conditions of intermittent soda pans in the Carpathian Basin (Central Europe) // *Limnologica*. – 2017. – No 62: 38. – 46 p.

22 Barberan, A., Casamayor, E.O. Euxinic Freshwater Hypolimnia Promote Bacterial Endemicity in Continental Areas // *Microbial Ecology*. – 2010. – No 61 (2). – P. 465–472.

23 Inelova Z.A., Zayadan B.K., Aitzhan M.U., Zaparina Y. G., Yedilova A. K. The study of saline and soda lakes of kazakhstan (review) // *Questions of geography and geocology*. – 2020. – No 4. – P.3–8.

24 Zorz J.K., Sharp C., Kleiner M., Gordon P.M.K, Pon RT, Dong X, Strous M. A shared core microbiome in soda lakes separated by large distances // *Nat Commun*. – 2019. – Vol. 10(1). – P.4230.

UDC 68.05.45

## UTILIZATION OF WHEY AS A SOURCE OF ETHANOL TO MINIMIZE ITS ADVERSE ENVIRONMENTAL IMPACT

Kozhakhmetova M.H.<sup>1</sup>, Akimbekov N.S.<sup>2</sup>, Berillo D.A<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*al-Farabi Kazakh National University, al-Farabi ave. 71, 050040, Almaty, Kazakhstan*  
*e-mail: marzhanur.7@mail.ru*

**Abstract.** There are various methods for immobilizing yeast. The aim of this work is to immobilize yeast cultures in cryogels to obtain ethanol from whey by fermentation, and compare the amount of ethanol at the end of the process. Cryogels are formed as a result of freezing of concentrated solutions, keeping them in a frozen state, and subsequent thawing. To prepare the cryogel, were used an 8% solution of polyvinyl alcohol, 1% gellan, and 1% carrageenan solution. After 72 hours of fermentation of whey in a thermal shaker at 30° C, a solution with immobilized yeast in a carrageenan cryogel has a relatively high optical density, but the ethanol concentration did not exceed 1%. The best ethanol yield was shown by a sample with immobilized yeast in a cryogel of polyvinyl alcohol - 5%, the optical density of which was high compared to other samples. This is explained by the stable structure, high strength and mass transfer characteristics, and high chemical stability of the material used.

**Key words:** *ethanol, milk whey, fermentation, yeasts, cryogel.*

### Introduction

Disposal of milk whey is due to the need to protect the environment from pollution. It is known that the oxidation of 1 liter of whey requires about 50 g of oxygen, while the oxidation of domestic wastewater requires only 0.3 g of oxygen. Therefore, the accumulation of whey in the soil or water bodies leads to a significant decrease in the oxygen concentration, which in turn leads to the death of flora and fauna[1]. According to the International Dairy Federation, now about 50% of milk whey is discharged into the sewer, and this amount will remain for a long time, since dairy products are among the irreplaceable food products. One of the directions for the processing of milk whey and the development of waste-free production is the production of bioethanol from milk whey.

Bioethanol of first generation is the leader biofuel in the world and it is produced by fermentation process. With the unavoidable depletion of the world's energy consuming, there has been an increasing worldwide interest in alternative sources of energy. Although bio energy suggests diverse range of promising alternatives, ethanol constitutes 99 % of all biofuel types. Ethanol is a renewable, environmentally friendly fuel that is inherently cleaner than gasoline. Ethanol reduces

harmful tailpipe emissions of carbon monoxide, particulate matters, oxides of nitrogen, and other ozone-forming pollutants [2]. The economic sizing up of various materials for bioethanol production was studied in depth previously [3]. The ever-increasing demand for ethanol requires the search for new substrates that are cheaper than grain and potatoes. As one of such substrates, it is proposed to use whey, the main carbohydrate of which is lactose [4].

The most commonly used ethanol producer microorganisms are yeasts. High level of ethanol production requires a fast- speed fermentation leading to high ethanol concentrations, moreover a yeast strain must have a good growth rate and good ethanol production rate at high osmotic condition and ethanol concentration in the media.

Currently, there is an active search for new methods and technological approaches to improve the efficiency of the processes for preparing bioethanol. One of the ways is the use of immobilized yeast, which makes it possible to increase the productivity of technological processes. Immobilized yeast cells differ from free cells with increased resistance to various unfavorable conditions of the process and the possibility of them application to obtain a finished product with a higher content ethanol, including in the mode of continuous technologies, and also allow significantly simplify the separation of the finished product from the yeast biomass [5-7]. Many supporting materials have been used for cell immobilization as calcium alginate,  $\kappa$ -carrageenan gel, polyacrylamide, hydroxyapatite and chamotte [8]. Another advantages of using immobilized cell system instead of free-cells during batch or continuous fermentations are: greater volumetric productivity as a result of higher cell density [9]. Previously we developed the method to cross-link membranes of bacterial cells in situ at cryoconditions, allowing to fabricate cryogel structure composed of bacteria, which was utilized for ethanol, butanol and acetone production[10].

The aim of this study was to immobilize yeast cells into different cryogels of gellan, carrageenan and PVA carriers for ethanol fermentation. The parameters such as ethanol concentration and ethanol yield, cell density and stability of the immobilized particles in flasks were assessed in order to compare the data of the immobilization carriers for ethanol fermentation. Cryogels are formed as a result of freezing of concentrated solutions, keeping them in a frozen state, and subsequent thawing [11] Obviously, it is necessary to optimize the conditions for the immobilization process and to establish the optimal ratio of the biocatalyst components to ensure high viability and metabolic activity of the immobilized cells.

## **Materials and methods**

### *Cryogel preparation and immobilization of yeast into cryogels*

Cultivation of cells is carried out until the end of the logarithmic phase of bacterial growth, which ensures the accumulation in the medium of the amount of biomass necessary for immobilization, and obtaining the most productive cells. Immobilization of bacteria is carried out by purifying them from the medium, washing with 0.9 % sodium chloride solution, suspending in a PVA-al solution with a final concentration of 8% , gelatin 1% and carrageenan 1% and quickly frozen at -8 - -25 ° C, where the cross-linking of bacterial membranes is carried out in a semi-frozen state in an unfrozen liquid microphase, which leads to the formation of a durable cryogel containing a matrix of bacterial cells. A suspension of bacteria in solutions is frozen in an appropriate form. Frozen samples are kept at a temperature of -8 - -25 ° C for 12 - 72 hours and thawed at room temperature[12]. And afterwards it were washed with sterile buffer or water. The viability of yeast cells in the washed buffer was analysed using the methylene blue staining method[13].

### *Substrate*

In the experiment was used the milk whey produced by LLP "Plant of the Kazakh Academy of Nutrition Amiran". The volume of the flask - 500 ml. Milk whey from 100% natural whole milk. Nutritional and biological value of 100 g. product consist: fat - 0.2 g., protein - 0.8 g., carbohydrates - 3.2 g, and moreover vitamins like A, B1, B2, B8, B12, C, E, and minerals, potassium, sodium,

magnesium, phosphorus, calcium. Energy value of 100 g product: 20 kcal., 83.6 kJ. The milk whey were obtained from the near market and stored at 4 °C until used.

*Fermentation*

The fermentation experiments in order to obtain ethanol were carried out using milk whey as sole carbon source for yeasts. Milk whey was previously autoclaved. The pH was at 6.1. A volume of 300 mL of fermentation mixture was added 10 g of the cryogels with 1 ml. immobilized yeast cells. The fermentation conditions are described in the table no. 1. The fermentation was carried out in a thermo shaker. The samples for analysis were taken after 24, 48 and 72 h. Bioethanol detection was carried out with the help of laboratory Alcoholmeter 1-40% ABV.

*Statistical analysis*

The paired T-test was employed for comparing data between the parameters of the whey samples at  $p < 0.01$ . The adopted significance level for the analysis was always  $p < 0.05$ .

**Results and discussions**

Results presented in Figures 1 indicated that the ethanol concentration with the cells immobilized in PVA was greater than with the cells immobilized in another polymers and in this system higher ethanol concentrations were achieved.

Table 1. The optical density and pH in the whey samples during fermentation at 30 °C.

Exp. no	Type of support Yeast	0 h		24 h		48 h		72 h	
		OD <sub>600</sub>	pH	OD <sub>600</sub>	pH	OD <sub>600</sub>	pH	OD <sub>600</sub>	pH
1	PVA	0.735	6.1	1.498	4.6	1.738	3.8	1.808	4.3
2	Gellan	0.646	6.1	1.327	4.7	1.630	4.3	1.697	3.7
3	Karageenan	0.648	6.1	1.458	4.6	1.690	4.3	1.770	4.3
4	(non immobilized)	0.631	6.1	1.228	4.7	1.508	4.5	1.711	4.4

By comparing maximum cell densities in the three assessed immobilization carriers it is evident that much higher cell densities were attained in also in PVA based cryogels. However, the Carrageenan carrier can provide better mechanical properties, that is why the yeasts grew well during all fermentation time. Its optical density not much different from PVA based cryogel added sample. Ethanol concentration achieve in the second day of fermentation to the 1 % , although no changes were committed in the following day. The gellan based cryogel structure was not stable in the whey and could not keep its structure stable. pH in the sample in the last day of fermentation was near the 3.7(Table 1). These results were peculiar to a decreased formation of junction zones in the conditions of high pH values due to greater electrostatic repulsion among the gellan molecules[14]. Under the circumstances, cryogels which form at neutral pH are more stable than gels in acidic conditions.

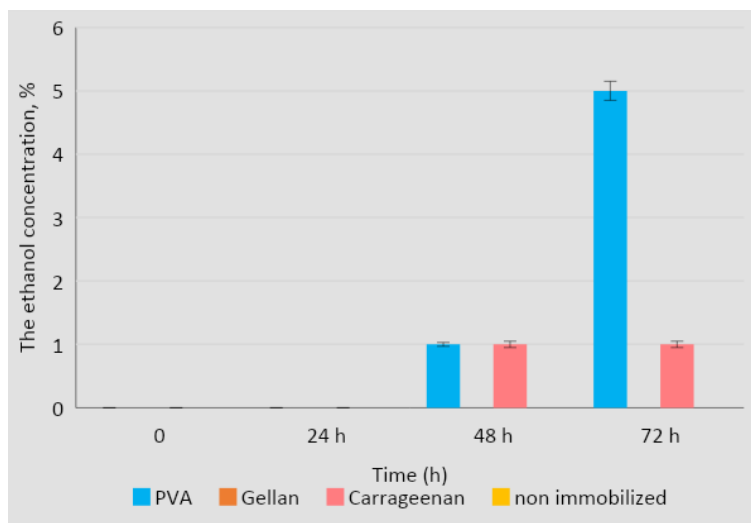


Figure 1. The ethanol concentration during the fermentation of milk whey.

### Conclusion

Cryogels of various polymers were obtained by freezing concentrated solutions, keeping them in a frozen state, and then thawing. The conditions for the immobilization process were optimized and the optimal ratio of components was established to ensure high viability and metabolic activity of the immobilized cells. The immobilized yeast cells were used for ethanol production from the milk whey. The best support for immobilization of yeasts was found to be cryogels based on the PVA, which showed good mechanical strength and high ethanol yield. Having selected the proper carrier, the further experiments should focus on optimizing the conditions for ethanol production. Under the same experimental conditions, high cell densities and ethanol concentrations were attained in the fermentation performed by yeasts immobilized into Carrageenan based cryogel relative to the fermentation by gellan immobilized yeast.

### References

- 1 Khramtsov A.G. Scientific and technical aspects of the rational use of milk whey // Dairy industry. - 1993. - P.2-4.
- 2 Jovanovic-Malinovska, Ruzica & Tsvetanov, Christo & Slobodanka, Kuzmanova & Maja, Cvetkovska & Winkelhausen, Eleonora. Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* in novel hydrogels based on hybrid networks of poly(ethylene oxide), alginate and chitosan for ethanol production // Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. - 2010. – No. 29. – P.169-179.
- 3 Greg D., Saddler J. Bioconversion of lignocellulosic residue to ethanol: process flowsheet development // Biomass Bioenerg. - 1995. – No. 9. - P.287-302.
- 4 Жубанова А.А., Шигаева М.Х. Микробиологические основы переработки молочной сыворотки. – Алматы: Мектеп. - 1996.
- 5 Nedovic V., Willaert R. Applications of cell immobilization biotechnology // Springer Pbsn. Ser.: Focus on biotechnology. - 2005. - V.8B. – 573 p.
- 6 Martynenko H. Improving the remuage (immobilized yeast) // Winemaking and Viticulture. - 2003. – No. 3. - P.14-16.
- 7 Sinitsyn A., Rainina E., Lozinsky V., Spasov S. Immobilized cells of microorganisms // M.: Publishing house of Moscow State University. - 1994. – 288 p.
- 8 Borovikova, Diana & Scherbaka, Rita & Patmalnieks, Aloizis & Rapoport, Alexander. Effects of yeast immobilization on bioethanol production // Biotechnology and applied biochemistry. - 2014. – No. 61. - P.1002-1158.

9 Prasad B., Mishra I.M. On the kinetics and effectiveness of immobilized whole-cell batch cultures // *Biores.* - 1995. -No. 53. – P.269-275.

10 Börner, R. A., Zaushitsyna, O., Berillo, D., Scaccia, N., Mattiasson, B., & Kirsebom, H. Immobilization of *Clostridium acetobutylicum* DSM 792 as macroporous aggregates through cryogelation for butanol production // *Process Biochemistry.* - 2014. - No. 49(1). – P.10-18.

11 Verbelen P. J., De Schutter D. P., Delvaux F., Verstrepen K. J., Freddy R. Delvaux. Immobilized yeast cell system for continuous fermentation applications // *Biotechnol. Lett.* - 2006. - V. 28. - P.1515-1525.

12 Berillo, D. A., Caplin, J. L., Cundy, A. B., & Savina, I. N. A cryogel-based bioreactor for water treatment applications // *Water research.* - 2019. – P. 324-334.

13 Manabu Sami, Mitsuo Ikeda, Seizo Yabuuchi. Evaluation of the alkaline methylene blue staining method for yeast activity determination // *Journal of Fermentation and Bioengineering.* – 1994. – V. -78. – P.212-216.

14 Carolina Siqueira Franco Picone, Rosiane Lopes Cunha. Influence of pH on formation and properties of gellan gels // *Carbohydrate Polymers.* – 2011. – V. 84. – P.662-668.

UDC 604.2

#### DETERMINATION OF TOXICITY OF *INULA VISCOSA* AND *INULA GRAVEOLENS* USING BRINE SHRIMP LETHALITY ASSAY

R. Mammadov<sup>1,\*</sup>, M. Ö. Atay<sup>2</sup>, B. Ardıl<sup>3</sup>, O. Ceylan<sup>4</sup>, M. Turan<sup>5</sup>, M. Alper<sup>6</sup>

<sup>1,2,3,6</sup>*Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey*

<sup>4</sup>*Department of Biology, Faculty of Science, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey*

<sup>5</sup>*Department of Biology, Faculty of Art & Science, Pamukkale University, Denizli, Turkey*

*e-mail: rmammad@yahoo.com*

**Abstract.** In this study, methanol and acetone extracts of *Inula viscosa* and *Inula graveolens* were screened for their toxicity using the brine shrimp lethality assay against *Artemia salina*. The acetone extract of *I. graveolens* used in the experiment showed the highest toxicity at the concentration of 0.5 mg/ml ( $86.11 \pm 2.78\%$ ). The lowest toxicity was shown in acetone extract of *I. viscosa* at the concentration of 0.01 mg/ml ( $58.3 \pm 0.00\%$ ). This study demonstrates that the brine shrimp experiment is a simple, reliable, and useful method for evaluating the toxicity of medicinal plants and supports their use in traditional medicine.

**Keywords:** *Inula viscosa*, *Inula graveolens*, *Artemia salina*, toxicity

Plants that have been used for medicinal purposes all over the world since prehistoric times are known to be useful in their raw or developed form by providing a source of medicine in their pure form [1]. The search for new drugs of plant origin has been receiving great interest by researchers around the world in terms of discovering new drugs that have the potential to combat the threat of drug-resistant pathogenic microorganisms, antitumor and anticancer agents [2,3]. Recently, more emphasis has been placed on the use of medicinal plants in phytotherapy or healing diseases, as they are effective, safe, and non-toxic [4]. Although many plants have valuable properties, some of them are known to have toxicological properties [5]. A large number of recent studies have focused on both the pharmacology and toxicity of medicinal herbs used by humans. This is very important to achieve a safe treatment with herbal products [6]. The toxicity of plants can be caused by different pollutants or plant chemical compounds that are part of the plant. Various experiments are used to investigate the potential toxicity of herbal extracts based on different biological models, such as in vivo experiments on laboratory animals. However, recent studies have endeavored for alternative biological experiments involving *Artemia salina*, *Artemia franciscana*, *Artemia urmiana*, and *Thamnocephalus platyurus* species. These toxicity tests are considered a useful tool for the

preliminary assessment of toxicity [7,8]. Over the past 30 years, the Brine Shrimp Test has been widely used to test the toxicity of a wide variety of plant products. Brine shrimp (*Artemia salina*) is the invertebrate component of saline aquatic and marine ecosystem fauna, the most extensively studied of *Artemia* species and is estimated to represent more than 90% of studies using *Artemia* as an experimental test organism [1,9]. The brine shrimp toxicity experiment was proposed and developed by Michael et al. [10]. The test is considered a useful tool for the preliminary assessment of toxicity and is used for the detection of cytotoxicity tests of fungal toxins, plant extract toxicity, heavy metals, pesticides, and dental materials [11,12]. The Brine Shrimp toxicity test is a very useful tool for the isolation of bioactive compounds from plant extracts. The method is attractive because it is very simple, inexpensive and a small amount of sample material is sufficient to perform the test [13,14].

In the Mediterranean region, *Inula viscosa* has been used in traditional medicine for years for its anti-inflammatory, antipyretic, antiseptic, antiphlogistic, anti-scabies activities and to treat gastro-duodenal diseases. In the Holy Land, the Arabs consider *I. viscosa* to be one of the most important medicinal plants as it heals 40 different diseases [15]. *I. graveolens* L. is widely distributed from the Mediterranean region and the Middle East to West Pakistan. According to data collected from some herbalists, they have gathered information that the herb is useful for rheumatic fever, infant convulsions, toothache, lowering blood sugar, dissolving internal blood clots, and aiding digestion [16]. The aim of this study is to evaluate the toxic activity of acetone and methanol extracts of *I. viscosa* and *I. graveolens* species by using brine shrimp lethality assay method. *I. viscosa*, commonly known as "sticky fleabane", is a perennial weed found in the Mediterranean basin.

In this study, based on the ethno-pharmacological literature *I. viscosa* from Muğla, Kavaklıdere and *I. Graveolens* plant was collected from Muğla, around the Ula Pond. Plants were allowed to dry at room temperature to obtain a crude extract from both plant species. After the dried plant specimens were cut into small pieces, they were placed in the beaker together with the solvent (methanol, acetone) and kept in the shaking incubator for 6 hours. At the end of the period, the plant samples were filtered and this process was repeated a second time. The solvent was then evaporated and lyophilized. The resulting crude extract was kept at -20 °C [17]. The brine shrimp lethality from plant extracts exposure was determined using the procedure of Krishnaraju et al. [18]. Two days before the experiment, commercially sold *Artemias* (Rotifish Artemia Mix Egg Salt Mix Fish Feed 18 g) were placed in a jar containing 500-600 mL of distilled water, and then an air hose connected to the air motor was placed inside the jar for continuous air. The jar was placed in the aquarium filled with 25% water. The aquarium was kept bright at 28-29 °C. *Artemia* eggs were expected to hatch for 2 days. After 2 days, 0.5 M sea saline solution was prepared. 5 ml of the prepared saline solution was put into the control tube and 4.5 ml was put into the test tubes where the extract will be placed. By shining light from the bottom, 12 pieces of living, mobile *Artemia* were added to the test tubes. Then, the extract solution prepared with the extract in 5 different concentrations (0.01 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml and 1 mg/ml) were added to the test tubes. Each extract was repeated three times. Test tubes were placed in a tube holder. The tube holder was placed in an aquarium kept brightly at a temperature of 28-29 °C, during which *Artemia* hatched. After 24 hours, each test tube was poured into a petri dish, and the *Artemia* that were still for a long time and were certain to be lifeless were counted and noted. Percent mortality was calculated from the mean survival larvae of the treated extracts and the control.

In the present study, the % death values of extracts and negative control are given in Tab. 1. Accordingly, it was observed that *I. viscosa* species had a higher toxicity than acetone extract with a concentration of 0.5 mg / ml methanol extract with a value of  $77.78 \pm 7.35\%$ . It was found that acetone extract had the highest toxicity among *I. graveolens* methanol and acetone extracts with a value of  $86.11 \pm 2.78\%$ . As a result, it has been concluded that the plant with the highest toxicity in both species is *I. graveolens*. The maximum death occurred at the concentration of 0.5 mg/ml and the least death at the concentration of 0.01 mg/ml. The important lethality property of these plant extracts

against brine shrimp is an indication of the presence of potent toxic components that warrant further investigation.

Table 1. % values and standard error of toxicity activity of *I. viscosa* and *I. graveolens* extract against *A. salina* after 24 hour

Plant \ Conc.	0.01 mg/mL	0.05 mg/mL	0.1 mg/mL	.5 mg/mL
<i>Inula viscosa</i> – Methanol	66.67 ± 8.33	69.44 ± 2.78	69.44 ± 2.78	77.78 ± 7.35
<i>Inula viscosa</i> - Acetone	58.33 ± 0.00	63.89± 7.35	72.22 ± 7.35	72.22 ± 7.35
<i>Inula graveolens</i> -Methanol	72.22 ± 7.35	72.22 ± 2.78	75.00 ± 4.81	80.56 ± 2.78
<i>Inula graveolens</i> - Acetone	66.67 ± 4.81	72.22 ± 2.78	72.22 ± 5.56	86.11 ± 2.78
Negative Control (Distille Water)	22.22 ± 2.78			

Conc.: Concentration

### *References*

- 1 Ramachandran S., Vamsikrishna M., Gowthami K.V., Heera B., Dhanaraju M.D. Assessment of cytotoxic activity of *Agave cantula* using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality bioassay // Asian Journal of Scientific Research. -2011. - No. 3. - P. 90-94.
- 2 Mirzaei M., Mirzaei A. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia uramiana* bioassays for toxicity of 4 Iranian medicinal plants // Int Res J Biol Sci. -2013. – No. 2. - P. 49-54.
- 3 Santos Pimenta L.P., Pinto G.B., Takahashi J.A., Silva L.G., Boaventura M.A. Biological screening of annonaceous Brazilian medicinal plants using *Artemia salina* L. (Brine Shrimp Test) // Phytomed. -2003. - No. 10. - P. 209-212.
- 4 Madjos G.G., Luceño A.M. Comparative cytotoxic properties of two varieties of *Carica papaya* leaf extracts from Mindanao, Philippines using brine shrimp lethality assay // Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences. -2019. - No. 8. - P. 113-118.
- 5 Tülay A.Ç., Özlem S.A. Cytotoxic and genotoxic effects of *Lavandula stoechas* aqueous extracts // Biologia. -2007. - No. 3. - P. 292–296.
- 6 Parra L.A., Yhebra R.S., Sardiñas I.G., Buela L.I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts // Phytomed. -2001. - No. 8. - P. 395-400.
- 7 Veni T., Pushpanathan T. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia fransiscana* bioassays for toxicity of Indian medicinal plants // J Coastal Life Med. -2014. - No. 2. - P. 453-457.
- 8 Mayorga P., Pérez K.R., Cruz S.M., Cáceres A. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening // Bras J Pharm. -2010. - No. 20. - P. 897-903.
- 9 Campbell D.L., Lawton L.A., Beattie K.A., Codd G.A. Comparative assessment of the specificity of the brine shrimp and microtox assays to hepatotoxic (microcystin-LRcontaining) cyanobacteria // Environ Tox. -1994. - No. 9. - P. 71-77.
- 10 Michael A.S., Thompson C.G., Abramovitz M. *Artemia salina* as a test-organism for bioassay // Sci. -1956. - No. 123. - P. 464.
- 11 Harwing J. and Scott P. Brine shrimp (*Artemia nauplii* L.) larvae as a screening system for fungal toxins // Applied Microbiology. -1971. - No. 21. - P. 1011-1016.
- 12 Pelka M., Danzl C., Distler W., Petschelt A. A new screening test of dental materials // Journal of Dentology. -2000. - No. 28. - P. 341-345.

13 Sam T.W. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. In: Colegate, S. M. and Molyneux, R. J. (Eds.), Bioactive Natural Products Detection, Isolation, and Structural Determination // CRC Press, Boca Raton, FL. -1993. - P. 442-456.

14 Arslanyolu M., Erdemgil F.Z. Evaluation of the antibacterial activity and toxicity of isolated arctiin from the seeds of *Centaurea sclerolepis* // J Fac Pharm. -2006. - No. 35. - P. 103-109.

15 Seca A.M., Grigore A., Pint, D. C., Silva A.M. The genus *Inula* and their metabolites: from ethnopharmacological to medicinal uses // Journal of ethnopharmacology. -2014. - No. 154. - P. 286-310.

16 Al-Fartosy A. J. Some pharmacological studies on the methanolic extract of *Inula graveolense* L // Journal of Biomedical Science and Engineering. -2013. - No. 6. - P. 1040.

17 Turan M., Mammadov R. Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, larvicidal and anthelmintic activities and phenolic contents of *Cyclamen alpinum* // Pharmacology & Pharmacy. -2018. - No. 9. - P. 100-116.

18 Krishnaraju A.V., Rao T.V.N., Sundararaju D., Vanisree M., Tsay H.S., Subbaraju G.V. Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay // International Journal of Applied Science and Engineering. -2005. - No. 3. - P. 125-134.

UDC: 664.8.03

## APPLICATION OF LIGHT-EMITTING DIODES (LEDS) FOR POSTHARVEST TREATMENT OF FRESH PERISHABLE AGRO PRODUCE

K.S. Meiramkulova, Zh.A. Tanybayeva, Kydyrbekova Assel

Department of Environmental Engineering and Management of L.N. Gumilyov Eurasian National University,  
Nur-Sultan city, Republic of Kazakhstan  
e-mail: kuleke@gmail.com

**Abstract.** Nowadays, the distance that food travels from producer to consumer has increased as a result of food trade globalization. With the outbreak of CoronaVirus Disease 2019 (COVID-19) the up-keep of safety and quality along the food value chain is becoming a significant challenge. The Food and Agriculture Organization (FAO) has reported that fruits and vegetables are the most wasted commodities [1]. The magnitude of postharvest losses in Kazakhstan, for example, reached 19% in 2020 [2], that is very high for import-dependent country. Major losses of fresh fruits and vegetables transpire during postharvest storage due to prompt senescence and diseases. The treatment of fresh agro produce surface has to be as gentle as possible for keeping the integrity and freshness, nutritional and functional qualities of perishable produce, particularly under COVID-19 conditions. Light-emitting diodes (LEDs) with their unique properties can meet these requirements. LEDs have been shown to preserve or enhance the nutritive quality of foods in the postharvest stage, as well as manipulating ripening of fruits and reduce fungal infections. Therefore, LEDs provide a non-thermal means of maintaining food safe without chemical sanitizers or additives, and do not accelerate bacterial resistance. Thus, this paper aims to provide a general review of the application of LEDs treatment on fresh fruits and vegetables surface and a better understanding of their role in postharvest preservation, microbiological safety and in extending shelf life and quality of fresh agro produce.

**Key words:** Food safety, LEDs, chemical free treatment, microbiological safety, postharvest, shelf life

### Introduction

Fruits and vegetables are well known for their health promoting properties due to their contents of vitamins, minerals, and antioxidants, which reduce the risk of chronic diseases and increased their demand in the consumer diet [3]. With the worldwide outbreak of coronavirus infection (COVID-



19), the problem of food quality and safety has arisen, which has a direct impact on the sufficient supply of people with nutrients, micro and macro minerals, including vitamins C and D, which play a crucial role in maintaining the human immune system.

The Food and Agriculture Organization (FAO) has reported that fruits and vegetables are the most wasted commodities [4]. The major causes behind this wastage are an inefficient post-harvest infrastructure [5], poor harvesting and storage techniques [6] and inappropriate marketing facilities [7]. So, the major challenge lies in reducing the wastage of fruits and vegetables along with fulfilling customer requirements of healthy, nutritious and safe food. The postharvest problem is a major global issue, in both developed and developing countries. As per the report of the Minister of trade and integration of Kazakhstan Bakhyt Sultanov, the emergency caused by the pandemic showed that there are minimal storage facilities for agriculture produce and there is neither a warehouse or a grocery in Kazakhstan that fully meets the temperature and humidity conditions and other requirements to agro produce storage [8]. These factors cannot but influence postharvest losses, including over-ripening, softening, decay, weight loss, senescence, firmness loss, and specific physiological disorders. The shortening of fruits and vegetable loss is a leading issue for providing long-term storage across the global population [9]. As a result, innovative fresh agro produce treatment technologies are being developed to cope with these challenges. One of the examples of these approaches is the application of light-emitting diodes (LEDs) [10].

The application of LEDs is a promising approach for the extension of shelf life and the reduction of food spoilage. In fact, LEDs have various properties that can be harnessed to draw its potential. These properties include (relatively) high power emission monochromatic light, long life expectancy, low radiant heat emissions and adaptability [11]. Because of these favorable properties, LEDs are gaining interest for their feasible and valuable use in various sectors, including agriculture [12]. Within agriculture, the use of LEDs has been reported to improve the nutritional quality in horticultural produce, delaying senescence, affecting the ripening process, preventing microbial contamination processes [13] and production of antioxidants [14]. Therefore, LEDs of different wavelength can be used to affect the pre- and post-harvest reactions of fruits and vegetables and help in post-harvest management [15].

#### *Overview of LED systems*

Light-emitting diodes (LEDs) are solid-state lighting devices that emit light with emission wavelengths of narrow bandwidths, high photoelectric efficiency and photon flux or irradiance, low thermal output, compactness, portability, and which are easily integrated into electronic systems. The unique properties of LEDs allow for the convenient manipulation of the spectral characteristics, radiant or luminous intensity, and temporal settings of the light produced [16].

LEDs have many advantageous properties that mark their use in postharvest storage of fruits and vegetables [17]. LEDs have the potential to regulate senescence, lead to ripening, and improve fruit quality and nutritional attributes in fruits and vegetables [18]. Other advantageous properties of LEDs include their monochromatic nature, long life, prevention of thermal degradation, and high photon efficiency. All these favorable characteristics make LEDs application beneficial for extending the storage life of fruits and vegetables [19].

Another important advantage of LEDs is the low emissions of radiant which can last for around 50000 to 100000 hours compared with 15000 hours for conventional lighting, and their compact size [20]. LED systems are energy efficient with high luminosity and high photon flux [21] and they do not involve the use of heavy metals which are toxic in cases of leakage [22].

#### *LED system for postharvest management*

Post-harvest management is a process of developing technology and designing systems to maintain the shelf life of food and reduce food losses. Activities such as handling, processing, packaging, distribution, storage and transportation [23] and variables such as temperature and moisture are involved at each and every stage of the food supply chain [24]. It is very important to

regulate these activities and variables to control the qualitative and quantitative losses and maximize the added value of fruits and vegetables.

Application of LEDs is an appropriate technology that can help in delaying senescence and regulating respiration rates. Also, it can be employed for managing the nutritional and sensory attributes and preventing microbial spoilage. Monitoring the above mentioned aspects can help in preserving the quality and shelf life of fruits and vegetables, further, aiding in the post-harvest management of food, and contribute to better health of people and preservation of the natural environment.

#### *Influence of LEDs in delaying senescence in postharvest fruits and vegetables*

Senescence is an undesirable phenomenon in some horticultural crops, instigating deterioration of fresh agro products, thus results in a loss of nutritional and commercial value [25]. The mechanism of the senescence process involves the allocation of nutrients from one part of the tissue to another and modification in both the physical characteristics and biochemical attributes of the cell structure [26]. Moreover, oxidative metabolism results in the production of reactive oxygen species (ROS) in fruits and vegetables. Overproduction and accumulation of ROS facilitate the degradation of membrane lipids, proteins, macromolecules, and enzymatic changes, causing cell death [27]. Additionally, structural changes, chlorophyll degradation, protein and macromolecule breakdown, and gene expression in horticultural crops cells are the factors responsible for the trait, texture, and shelf life deterioration of fruit.

LEDs have significant utility in delay senescence as the optimum amount of light of a specific wavelength and frequency affects stress conditions in fruits and vegetables [28]. The point at which the light required for the pace of photosynthesis and respiration becomes adequate is called the light compensation point, which defines this optimum level of light intensity. Senescence occurs below or above this illumination level of brightness [29]. Mostly, blue LEDs (460 nm) and white LED (420–700) lights are known to control the senescence by lowering the pigment degradation and affecting the transpiration and respiration processes [30]. Blue LED light reduces the moisture content of fresh produce during postharvest storage of crops, while the red LED light supports the moisture of tissues of horticultural crops [31]. Both blue and red LEDs delay the senescence of vegetables and fruit by decreasing the production of ethylene and ascorbates by regulating other hormones [32].

Light quality increases the production of nutrients and delay senescence during the storage of fruits and vegetables [33]. Low intensity has been reported to improve the postharvest attribute of fruits and prevent senescence during storage than those stored in the darkness [34]. Senescence may vary in criteria with different vegetables, and loss of chlorophyll and wilting usually indicates senescence in leafy vegetables. Based on the type of photoreceptors in fruits and vegetables, responses generated due to light at different wavelengths are different [35].

#### *Effects of LEDs on nutritional enhancement*

Lights of different wavelengths regulate key phytochemical processes such as photosynthesis and production/assimilation of secondary metabolites in plants [36]. The treatment of fruits and vegetables with LEDs of different light (wavelength) can help to maintain the nutritional quality in post-harvest conditions by inducing such mechanisms as the expression of genes in the biosynthesis pathways or triggering of enzymatic changes. The irradiation can result in an increase of antioxidant activity or enhancement of bioactive compounds in fruits and vegetables [37]. The impact of different LED light colours can be diverse for the different fruits and vegetables affecting their nutritional value in their own way, thereby affecting the functional components and quality. Thus, blue (400-470 nm) and red (600- 650 nm) LED lights have been reported as having a significant effect on nutritional quality [38]. Blue light is associated with its effect on various metabolic pathways and accumulation of phenolic compounds, carotenoid, anthocyanin, ascorbic acid and polyphenols [39] whereas red light regulates the concentration of phytochemicals like terpenes, sesquiterpenes and tocopherols in fruits and vegetables [40]. The researchers proposed the use of blue light in the post-harvest management of fruits like strawberries which are highly perishable. However, further and

detailed studies are required to analyze the effect of different coloured LEDs at different intensities to examine the potential of the LED system in the food industry.

*Effect of LEDs on pathogenic microorganisms in fresh agro produce*

The diseases caused by fungi during the storage period of fresh horticultural produce will cause a lot of economic losses, which has been the focus of attention among researchers. Currently, chemical synthesizes fungicides are still the best ones, but the application is limited to its safety [41]. LEDs are among the several techniques developed and introduced to reduce pathogenic microorganisms in fruits and vegetables. Upon irradiation with LEDs, photosensitizers or photoreceptors absorbs light to form reactive oxygen species that react with the biomolecules to trigger the effect. These ROS interfere with the microbial cell structure causing the breakdown and preventing the spoilage [42]. Moreover, LED light application triggers the defense related genes or accumulation of defense hormones in fruits and vegetables which offers the resistance to microbial growth and damage. However, different LED wavelengths can initiate different molecular responses in microbial cells [43]. Many studies were conducted by researchers to investigate the effect of LEDs on microbial damage at variable wavelengths and intensities.

It was observed that blue light was effective against *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* and *Penicillium citri* for both *Fallglo* and sweet oranges. The researchers report that one-hour treatment of fruit is sufficient to control the growth of green mold, blue mold and stem end rot, preventing decay. However, the effectiveness of the application of blue light was limited to the fruit surface and was not efficient at low intensities. The use of blue LEDs still has the potential to minimize the post-harvest losses by reducing fungal infections and fruit decay [44]. In another study, the anti-bacterial action of LED system has been reported against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. The studies conducted in this area are of great importance for the post-harvest management of food as microbial spoilage is the major cause of postharvest losses in the food industry.

**Conclusion**

The current global challenge is to provide food security and safety, particularly under COVID-19 conditions. The possible ways to do so is to increase the production rate of food or to prevent the food wastage so as to ensure the provision of quality and safe food to people. The use of light emitting diodes is playing an important role in agriculture and can play an important role at the post-harvest stage to comply with the above mentioned requirement. At present, the technology of light emitting diodes (LEDs) is being employed for agricultural advancements and horticultural production of fruits and vegetables. The distinctive properties of LEDs make it a noteworthy choice. Some of these properties include monochromatic emission, high photon flux, long life and non-thermal operation. Lights of different wavelengths regulate key phytochemical processes such as photosynthesis and production/assimilation of secondary metabolites in plants. Similarly, the use of LEDs can help in regulating the senescence, affecting the nutritional quality and reducing the microbial spoilage in fruits and vegetables at the post-harvest stage. The application of LED technology holds a potential for shelf life enhancement and management of post-harvest activities. It can help the processors and distributors in bringing down wastage and help in the provision of long-term storage and transportation. Thus, it is evident that LED technology brings unprecedented benefits to the full food supply chain, from the production of agro products to the postharvest stage, and during the insuring of food safety prior to human consumption. Their further development in postharvest management will be of great benefit to the food industry and society.

**References**

1. Dou, H., Niu, G., Gu, M., & Masabni, J.G. (2017). Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*, 3(2), 1–11. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020036>.

2. <https://lsm.kz/pervye-sovremennye-centry-dlya-hraneniya-ovoshej-i-fruktov-poyavyatsya-do-konca-goda--sultanov>.
3. Slavin, J., & Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutrition*, 3(4), 506–516. <https://doi.org/10.3945/an.112.002154.506>.
4. Dou, H., Niu, G., Gu, M., & Masabni, J.G. (2017). Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*, 3(2), 1–11. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020036>; Miguel, J., Javier, P., Castillo, S., & Valero, D. (2008). The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 19(9), 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.01.013>.
5. Moustafa, K. (2016). Food and Sustainability Challenges Under Climate Changes. *Science and Engineering Ethics*, 22(6), 1831–1836. <https://doi.org/10.1007/s11948-015-9737-y>.
6. Kiaya, V. (2014). Post-Harvest Losses and Strategies To, (January), 1–25.
7. Prusky, D. (2011). Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future prospects. *Food Security*, 3(4), 463–474. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0147-y>.
8. <https://lsm.kz/pervye-sovremennye-centry-dlya-hraneniya-ovoshej-i-fruktov-poyavyatsya-do-konca-goda--sultanov>.
9. Capone, R., El Bilali, H., Debs, P., Cardone, G., & Driouech, N. (2014). Food System Sustainability and Food Security: Connecting the Dots. *Journal of Food Security*, 2(1), 13–22. <https://doi.org/10.12691/jfs-2-1-2>.
10. Hasperué, J. H., Rodoni, L. M., Guardianelli, L. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. (2016b). Use of LED light for Brussels sprouts postharvest conservation. *Scientia Horticulturae*, 213, 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.004>.
11. D'Souza, C., Yuk, H. G., Khoo, G. H., & Zhou, W. (2015). Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 719–740. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12155>.
12. Kim, B. S., Lee, H. O., Kim, J. Y., Kwon, K. H., Cha, H. S., & Kim, J. H. (2011). An effect of light emitting diode (LED) irradiation treatment on the amplification of functional components of immature strawberry. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 52(1), 35–39. <https://doi.org/10.1007/s13580-011-0189-2>.
13. D'Souza, C., Yuk, H. G., Khoo, G. H., & Zhou, W. (2015). Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 719–740. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12155>.
14. Kim, M. J., Bang, W. S., & Yuk, H. G. (2017). 405 ± 5 nm light emitting diode illumination causes photodynamic inactivation of *Salmonella* spp. on fresh-cut papaya without deterioration. *Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.002>.
15. Colquhoun, T. A., Schwieterman, M. L., Gilbert, J. L., Jaworski, E. A., Langer, K. M., Jones, C. R., ... Folta, K. M. (2013). Postharvest Biology and Technology Light modulation of volatile organic compounds from petunia flowers and select fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.013>.
16. Branas, C., Azcondo, F. J., & Alonso, J.M. (2013). Solid-state lighting: A system review. *IEEE Industrial Electronics Magazine*, 7(4), 6–14. <https://doi.org/10.1109/MIE.2013.2280038>.
17. Bantis, F., K. Karamanoli, A. Ainalidou, K. Radoglou, and H.-I.A. Constantinidou. 2018. Light emitting diodes (LEDs) affect morphological, physiological and phytochemical characteristics of pomegranate seedlings. *Scientia Hort.* 234:267–274, doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.065.
18. Gupta, S Dutta Agarwal, A. (2017). *Light Emitting Diodes for Agriculture*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5807-3>.
19. Krames, M. R., Shchekin, O. B., Mueller-Mach, R., Mueller, G. O., Zhou, L., Harbers, G., & Craford, M. G. (2007). Status and future of high-power light-emitting diodes for solid-state

lighting. IEEE/OSA Journal of Display Technology, 3(2), 160–175.  
<https://doi.org/10.1109/JDT.2007.895339>.

20. Gupta, S. D. (2017). Light Emitting Diodes for Agriculture. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5807-3>.

21. Gupta, S. D., & Aggarwal, A. (2017). “Artificial Lighting System for Plant Growth and Development: Chronological Advancement, Working Principles, and Comparative Assessment”, Light Emitting Diodes for Agriculture. Springer, Singapore.

22. D’Souza, C., Yuk, H. G., Khoo, G. H., & Zhou, W. (2015). Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 719–740. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12155>.

23. Verma, L. R. (2000). Postharvest technology of fruits and vegetables: handling, processing, fermentation, and waste management. (2nd ed.). Indus Publishing.

24. El-ramady, H. R., Domokos-szabolcsy, É., Abdalla, N. A., Taha, H. S., & Fári, M. (2015). Postharvest Management of Fruits and Vegetables Storage. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09132-7>.

25. Pogson, B. J., & Morris, S. C. (2003). Postharvest senescence of vegetables and its regulation. *Plant Cell Death Processes*, 319–329. <https://doi.org/10.1016/B978-012520915-1/50025-4>.

26. Aked, J. (2002). Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. *Fruit and Vegetable Processing*, 119–149. <https://doi.org/10.1533/9781855736641.2.119>.

27. Drobot, L. B., Samoylenko, A. A., Vorotnikov, A. V., Tyurin-Kuzmin, P. A., Bazalii, A. V., Kietzmann, T., et al. (2013). Reactive oxygen species in signal transduction. *Ukrain’skyi Biokhimichniy Zhurnal*, 85 (6), 209–217. <https://doi.org/10.15407/ubj85.06.209>.

28. Noodén, L. D., & Schneider, M. J. (2004). 26 - Light Control of Senescence. *Plant Cell Death Processes*, (1), 375–383. <https://doi.org/10.1016/b978-012520915-1/50029-1>.

29. D’Souza, C., Yuk, H. G., Khoo, G. H., & Zhou, W. (2015). Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 719–740. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12155>.

30. Hasperué, J. H., Guardianelli, L., Rodoni, L. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. (2016). Continuous white-blue LED light exposition delays postharvest senescence of broccoli. *LWT- Food Science and Technology*, 65, 495–502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.041>; Hasperué, J. H., Rodoni, L. M., Guardianelli, L. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. (2016). Use of LED light for Brussels sprouts postharvest conservation. *Scientia Horticulturae*, 213, 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.004>.

31. Gupta, S Dutta Agarwal, A. (2017). Light Emitting Diodes for Agriculture. springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5807-3>; Muneer, S., Kim, E. J., Park, J. S., & Lee, J. H. (2014). Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves ( *Lactuca sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 4657–4670. <https://doi.org/10.3390/ijms15034657>.

32. Ma, G., Zhang, L., Setiawan, C. K., Yamawaki, K., Asai, T., Nishikawa, F., Kato, M. (2014). Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. *Postharvest Biology and Technology*, 94, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.03.010>.

33. Braidot, E., Petrusa, E., Peresson, C., Patui, S., Bertolini, A., Tubaro, F., Wählby, U., Coan, M., Vianello, A., & Zancani, M. (2014). Lowintensity light cycles improve the quality of lamb’s lettuce (*Valerianella olitoria* [L.] Pollich) during storage at low temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 90, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.003>.

34. Braidot, E., Petrusa, E., Peresson, C., Patui, S., Bertolini, A., Tubaro, F., Wählby, U., Coan, M., Vianello, A., & Zancani, M. (2014). Lowintensity light cycles improve the quality of lamb's lettuce (*Valerianella olitoria* [L.] Pollich) during storage at low temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 90, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.003>.
35. Holopainen, J. K., Kivimäenpää, M., & Julkunen-Tiitto, R. (2018). New Light for Phytochemicals. *Trends in Biotechnology*, 36(1), 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.08.009>.
36. Xu, F., Shi, L., Chen, W., Cao, S., Su, X., & Yang, Z. (2014). Effect of blue light treatment on fruit quality, antioxidant enzymes and radical-scavenging activity in strawberry fruit. *Scientia Horticulturae*, 175, 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.012>.
37. Samuoliene, G., Sirtautas, R., Brazaityte, A., & Duchovskis, P. (2012). LED lighting and seasonality effects antioxidant properties of baby leaf lettuce. *Food Chemistry*, 134(3), 1494–1499. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.061>.
38. Colquhoun, T. A., Schwieterman, M. L., Gilbert, J. L., Jaworski, E. A., Langer, K. M., Jones, C. R., ... Folta, K. M. (2013). Postharvest Biology and Technology Light modulation of volatile organic compounds from petunia flowers and select fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.013>.
39. Taulavuori, E., Taulavuori, K., Holopainen, J. K., Julkunen-Tiitto, R., Acar, C., & Dincer, I. (2017). Targeted use of LEDs in improvement of production efficiency through phytochemical enrichment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5059–5064. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8492>.
40. Holopainen, J. K., Kivimäenpää, M., & Julkunen-Tiitto, R. (2018). New Light for Phytochemicals. *Trends in Biotechnology*, 36(1), 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.08.009>.
41. Assefa, A. (2019). Review on effect of light on disease development and management of horticultural crops under protected cultivations. *International Journal of Forestry and Horticulture*, 5(3), 5–18. <https://doi.org/10.20431/2454-9487.0503002>.
42. Luksiene, Z., & Zukauskas, A. (2009). Prospects of photosensitization in control of pathogenic and harmful micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 107(5), 1415–1424. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04341.x>.
43. Hasan, M. M., Bashir, T., Ghosh, R., Lee, S. K., & Bae, H. (2017). An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules22091420>.
44. Liao, H. L., Alferez, F., & Burns, J. K. (2013). Assessment of blue light treatments on citrus postharvest diseases. *Postharvest Biology and Technology*, 81, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.019>.

UDC 574

## RESEARCH OF PHYTOTOXICITY OF ALMATY CITY SOILS

B.N.Mynbayeva., A. Dossan., D.Baimolda., Kh.Zhanbekov  
*Kazakh National Pedagogical University named after Abai, Kazakhstan, Almaty*  
e-mail: [bmynbayeva@gmail.com](mailto:bmynbayeva@gmail.com)

**Abstract.** In this paper, we presented some results of environmental toxicity of Almaty city soils by phytotesting method. Our investigation was carried out at the laboratory of ecotoxicological analysis of soils at the Soil Science Faculty, Lomonosov State University in Moscow, Russia. The authors used a phytotesting method to determine the toxicity of urban areas or “urbanozems” of Almaty contaminated with heavy metals (HM). Soil samples were taken at 4 urbanozem patches and 1 control (non-contaminated) patch. The test objects were white mustard seeds and freshwater microalgae. For all 4 patches through the percentage of inhibition of mustard seedlings, an average

toxicity was established: from 42 to 49%. The growth of microalgae cells on urban soil extracts (15 to 41%) was very low comparing to the control (212%). Thus, the method of phytotesting turned out to be effective: the inhibition of the growth and development parameters of phytotests was significant for urban soils contaminated with HM.

**Keywords:** *phytotesting method, phytotoxicity, urban soils, test objects, heavy metals*

### **Introduction**

The ecological state of urban ecosystems causes public concern for variety of reasons. Among them, a special place is occupied by an increase in transport load, which inevitably leads to chemical pollution of soils. Soil is a good accumulator, which gathers many pollutants, including heavy metals [1,2]. Heavy metal (HM) emissions from stationary and mobile sources of environmental pollution enters the atmosphere, soil, accumulating in its upper horizons. HM are among the priority pollutants of specific soils of urban areas - urban soils [3].

Three factors may affect the level of air and soil pollution of city: exhaust gases from vehicles, emissions (CO<sub>2</sub> and SO<sub>2</sub>) from thermal power plants and from the private sector, where solid fuel - coal is burned [4]. According scientists combustible part and non-combustible mineral part of coal-ash will cause irreversible damage to the environment when using coal as an energy source. So they suggested the quick method to determine the sulphur and ash content of coal using X-ray fluorescence analysis, which is one of the most suitable method among analytical methods [5].

Over the years scientists works have established that the soils of Almaty are contaminated with heavy metals. According their research significant concentrations of heavy metals were found in the soils of the city of Almaty, especially Pb and Cu concentrations. Cd content also exceeded the MPC [6,7].

Earlier, the assessment of soil cover toxicity in Almaty was carried out on microbial bioindicators and phytoindicators [8].

The ecological condition of soil in Almaty was also checked through the use of multisubstrate testing (MST) [9].

The purpose of this study is to use phytotesting to determine the level of toxicity of urban soils in Almaty. The phytotesting method has high sensitivity, versatility, integrality and simplicity. It is widely used to determine the toxicity of pollutants in both soil and water [10,11].

### **Objects and methods of research.**

Soil samples were taken by "envelope" method (i.e. at 5 points on one patch) at 5 patches: patch 1 – al-Farabi KazNU park zone (control for urban soils), patch 2 – intersection Abai Ave./Seifullin Ave., patch 3 – Raiymbek Ave./Rozybakiev St., patch 4 – intersection of Raiymbek Ave./Seifullin Ave., patch 5 – intersection of Raiymbek Ave./Pushkin St., observing conditions for preservation of native structures of soil micrococenoses. Then these samples were mixed, dried and sieved through the medium with diameters of 1 and 2 mm. Water extract from soil for biotesting was prepared in the ratio: 1 part of soil and 4 parts of cultivation water.

The test objects were: white mustard seeds *Sinapis alba* (L.1753) and algae culture *Scenedesmus quadricauda* (Meyen 1829).

Biotesting was carried out at the Faculty of Soil Science of Lomonosov Moscow State University in the laboratory of ecotoxicological analysis of soils (LETAP) [12].

Small seeds of white mustard with a small supply of nutrients and transparent plates with vertical exposure were used to increase the expression of phytotesting. White mustard seeds were decomposed into the plate cells. It is not necessary to use a traditional ruler and to open the chambers to change the length of the seedlings. Each version of the test was conducted in 4 repetitions. Average length of seedlings was used as an indicator of phytotoxicity of soil samples.

The average length of white mustard seedlings from patch 1 (KazNU al-Farabi park zone) was taken as control (100%), the results in other versions were compared with control (in %). The difference between the established percentage of the length of the seedlings and the control

corresponds to the total toxicity in case of inhibition of the indicator. The following soil toxicity ranking was used: the sample is toxic if the percentage inhibition of the seedlings length is equal to or more than 20-50%; the sample is highly toxic - equal to or more than 50-75% and the sample is very highly toxic - equal to or more than 75%.

The intensity of algae reproduction was established through the coefficient of cell growth in the prepared soil extract. The test conditions were consistent with the procedure [12]. Conducting the test: 100 ml of each salt solution were prepared separately; the nutrient medium was sterilized by boiling on low heat for 20-30 minutes; algal culture flasks were sterilized with dry heat for 1 hour when 180°C. In a flask with a volume of 1.5-2 liters with a previously prepared medium of Uspensky No. 1, a suspension of algae was sterile before obtaining a number of 50-100 thousand kl/ml (weak pale green staining). The algae suspension was then sterile spilled into test flasks (50 ml volume) and soil extract was added. The flasks were placed in a well-lit place, protected from direct sunlight. Duration of biotesting with algae: 96 hour. The total number of freshwater microalgae culture cells was counted in the Goryaev chamber with a standard camera data volume of 0.0001 ml. Then, 1 ml ( $= 1 \text{ cm}^3$ ) was recalculated according to the following formula:  $X = t - 104$ , where X is the total number of cells in  $1 \text{ cm}^3$ ; t is the number (sum) of cells in 25 large squares. The number of cells is expressed in thousands and millions per 1 ml, or in billions per 1 l. At a higher initial density of cultures, a two-mesh Goryaev counting chamber was used.

### Results and discussion

According to the indicator the percentage inhibition of white *Sinapis alba* mustard seedlings length, the soil sample from patch 1 (park zone of KazNU named after al-Farabi) was not toxic - the average length of seedlings was 17% (below the permissible limit of 20%). Therefore, the soil on patch 1 can be considered as control. The percentage inhibition of mustard seedlings on soils at patches 2, 4 and 5 was 42, 38 and 44%, congruent with indicating average toxicity of soil samples (Figure 1).

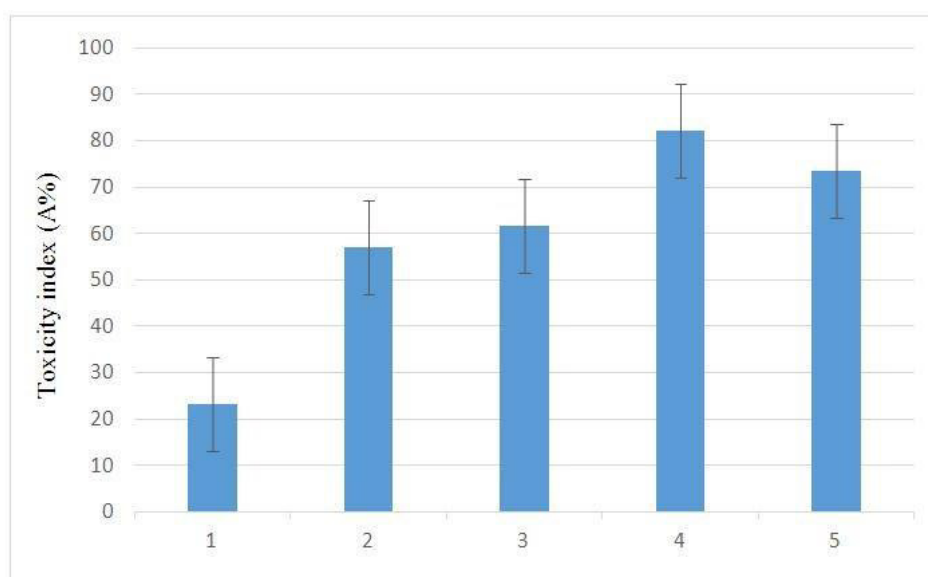


Figure 1. Toxicity index (A%) of *Paramecium caudatum*

The highest inhibition degree of mustard seedlings growth was 49%, which revealed in patch 3. The increasing number change of microalgae cells of *Scenedesmus quadricauda*, expressed in  $N_m \times 105 \text{ kL/ml}$ , showed that the number of microalgae cells at patches 2, 3, 4 and 5 was very low (Figure 2).



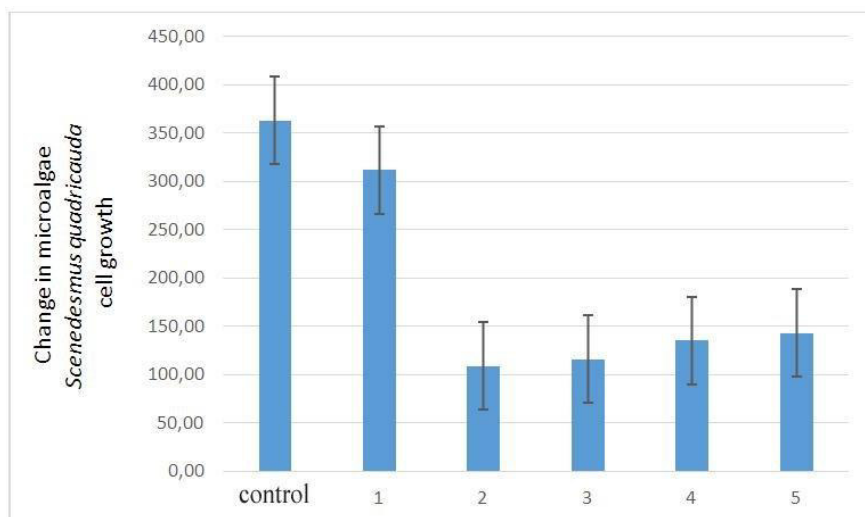


Figure 2. Change in microalgae *Scenedesmus quadricauda* cell growth, N<sub>m</sub> × 10<sup>5</sup> c/ml

For example, cell growth was: 108.8% to control - at patch 2; 115.7% - at patch 3; 135.3% - at patch 4 and 141.1% - at patch 5. Therefore, the low number of microalgae test objects indicated high soil toxicity of these sites. Non-toxic soil turned out to be on the patch 1 (park zone of KazNU named after al-Farabi): the microalgae increase number amounted to 311.7% to control.

The most toxic were the soil samples taken at patches 3 and 4 (interpatches ave. Rayymbek/st. Rozybakiev and Ave. Rayymbek/Ave. Seyfullin). These highways from the selected patches of the urbanized territory of Almaty have the most intensive traffic, therefore, we conclude that the results of the used method of phytotesting with the help of white mustard seeds and microalgae reflect the real contamination of HM in soils and the degree of toxicity.

### References

1. City ecology: textbook. manual for universities / Otv. ed. N. S. Kasimov. - M.: Scientific. mir, 2004. -- 624 p.
2. Chernykh N.A., Milashchenko Z., Ladonin V.F. Ecotoxicological aspects of soil pollution with HM. - M.: Agroconsult, 1999. -- 195 p.
3. Smejkalova M., Mikanova O., Boruvka L. Effects of heavy metal concentrations on biological activity of soil microorganisms // Plant Soil Environ. - 2003. - Vol. 49, No.7. - P.321-326.
4. Baimolda D. Application of X-ray fluorescence analysis in coal industry// Monograph. – Almaty, Publishing house `Ulagat` KazNPU named after Abai, 2018
5. Baimolda D., Cechak T., Tlebaev K. Determination of sulphur and ash contents in the coal by X-ray fluorescence method // Ponte`-International Multidisciplinary Journal of Sciences and Research, Florence, Italy. Issue 3, Mar 2019, Volume 75, 6. Mynbaeva B. N. Accumulation of heavy metals by test plants on urbanized soils in Almaty // Bulletin of the National Academy of Sciences of Kazakhstan. 2009. № 5. P. 68-73.
6. Mynbaeva B. N. Assessment of soil contamination by heavy metals by chemical and mathematical methods // Basic research. 2011. No.10 (Part 1). P. 131-136.
7. Mynbaeva B. N. Microbial bioindication of Almaty soils with the help of Azotobacter culture// Basic research. 2011. № 6. P. 206-209.
8. Mynbayeva B., Seilova L., Voronova N. et al. Urban soil's toxicity control via the evaluation of changes in bacterial communities' metabolic spectra // African Journal of Microbiology Research. 2014. Vol. 8 (5). R. 437-440.
9. Melekhova OP, Egorova E.I., Evseeva T.I. and other Biological control of the environment: bioindication and biotesting. - M.: Academy, 2007. -- 288 p.

10 Terekhova V.A., Rakhleeva A.A., Kudryashov S.V. et al. Biological methods for determining the ecological toxicity of soils and waste hazard class // Materials of the Intern. school "Modern methods of ecological and geochemical assessment of the state and changes in the environment." - Novorossiysk, 2003.

11 Biotesting technologies: Ecotoxicological assessment of environmental objects: textbook. manual / Under. ed. V.A. Terekhova. - M.: Moscow State University, 2008. -- 83 p.

UDC 604.2

### **OBTAINING BRACHYPODIUM DISTACHYON PLANTS *IN VITRO***

N.Zh. Omirbekova, A.I. Zhussupova\*, Zh.K. Zhunusbayeva, B.A. Yertaeva

NPJSC Al-Farabi Kazakh National University, al-Farabi av. 71, Almaty, Kazakhstan

e-mail: [Aizhan.Zhussupova@kaznu.kz](mailto:Aizhan.Zhussupova@kaznu.kz)

**Abstract.** *Brachypodium distachyon* – only annual wild cereal, phylogenetically close to agriculturally significant cereal crops – wheat, barley, rice. Traditionally genetic transformation of cereal crops includes getting callus tissue capable of plant regeneration, microclonal propagation of plants, etc. The aim of research was to develop methodology for in vitro cultivation, study callus-forming ability and regenerative potential of the generative and vegetative parts of *B. distachyon* plants.

One of the significant issues of the modern world economy also relevant for Kazakhstan is food quality assurance. Environmental stress factors of biotic and abiotic nature lead to a decrease in the productivity of crops, and the annual loss of world crop yield from diseases, according to the FAO UN, is estimated at more than \$25 billion, which is equivalent to 35% of the potential harvest [1]. The mechanisms of plant defense response to the action of phytopathogens are very complex. These are physical responses when the cell wall is a key element in plant defense; chemicals, including the formation of reactive oxygen species, protective compounds, as secondary metabolites and proteins related to pathogenesis [2]. The evolution of pathogens is ahead of the possibilities of practical breeding. In this regard, one of the primary tasks of practical breeding is to identify and develop mobile methods and ways of forming plant resistance to pathogens.

*Brachypodium (B.) distachyon* (L.) P. Beauv. (shown on Figure 1; synonyms: *Bromus distachyos* L.; *Trachinia distachya* L.) is the only annual wild cereal, phylogenetically close to agriculturally significant cereals – wheat, barley, rice. It has several advantages: small size (15-20 cm), short life cycle (8-12 weeks), small genome size (fully sequenced; ~ 310 Mb/1C; 2n=10 chromosomes).



Figure 1. Growth of *B. distachyon* (line 3-1) in the field

This facilitates its application for fundamental and innovative applied research in the fields of cell biology, biochemistry, molecular genetics, and agricultural biotechnology.

Traditionally genetic transformation of cereal crops includes getting callus tissue capable of plant regeneration, microclonal propagation of plants, etc. The aim of research was to develop methodology for *in vitro* cultivation, study callus-forming ability and regenerative potential of the generative and vegetative parts of *B. distachyon* plants.

Reproduction of *B. distachyon in vitro* included preparation of the initial plant material, its sterilization, placing the fragments on a nutrient medium, their cultivation, microcutting, *in vitro* rooting, transfer and adaptation of material on soil substrate. Young lateral shoots of greenhouse plants 5-7 cm long with 3-4 internodes were used as a starting material. The original shoots were washed in soapy water, followed by rinsing in running water for 30 minutes. Further sterilization of the material was carried out under the conditions of a laminar according to the following scheme: treatment with 70% ethanol for 1 min, mercuric chloride 0.1% for 9 min and 3-fold treatment with sterile water for 5 min. Further, shoots were divided into single-node cuttings with the base of the adjacent leaf (Fig. 2, A). They were planted on a Murashige and Skoog (MS) nutrient medium with the inclusion of cytokinin kinetin, the material was transferred to the conditions of a light room (the duration of one cultivation passage is 30 days), where the following parameters were maintained: 16-hr photoperiod, 60% humidity, temperature 22-24 °C. The growth and development of explants were visually assessed weekly.

According to our results, regeneration of additional shoots occurs at the base of the node due to the activity of the intercalary meristem located in this zone. The subsequent increase in the intensity of reproduction is achieved by laying additional buds at the base of the resulting shoots as a result of the stimulating effect of growth regulators of the nutrient medium. In cereal crops, intercalary growth, as a rule, is often associated with the phase of removal of the inflorescence or peduncle on an already established plant. It was in this actively growing meristematic zone that additional shoots were laid and regenerated. The establishment and regeneration of additional shoots occurred 20-25 days post cultivation on an inducing medium with the addition of kinetin.

Fig. 2, A and B show the regrowth and development of shoots from the primary explants of the nodal segments of the shoots on the 20th day of cultivation on MS inducing medium supplemented with cytokinin kinetin at a concentration of 2 mg/ L (passage 0). The results obtained on the selection of explants indicate that it is the nodal segments of vegetative shoots that are optimal for microclonal reproduction of *B. distachyon*.

The shoots obtained at the first stage were then transplanted onto the main MS medium with the addition of 2.0 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP). In this case, the shoots elongated and additional buds were laid in the leaf axils, from which adventive shoots developed. The regrown new shoots were additionally separated and transplanted into a fresh nutrient medium for further reproduction (Fig. 2, C). The procedure was repeated for several times to obtain conglomerates of shoots (Fig. 2, D). Duration of cultivation – up to three passages, duration – up to 12 weeks. The shoot-forming ability of primary explants was about 59%, the average reproduction rate for two passages equaled 8.7.

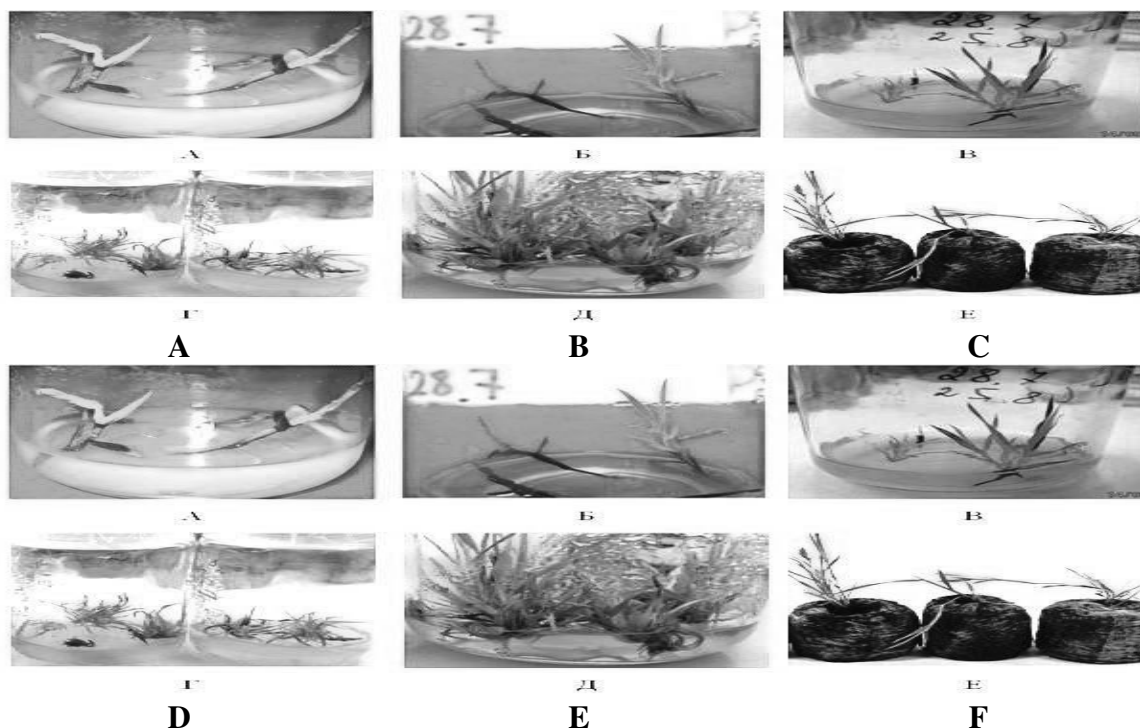


Figure 2. Regeneration of *Brachypodium distachyon* shoots on explants of nodal segments of shoots, where: A – explant 20 days after *in vitro* cultivation; B – explant after a month of cultivation on MS medium with 2 mg/ L kinetin; C – microcutting on MS medium with 2 mg/ L BAP, 1<sup>st</sup> passage; D – conglomerates of shoots on MS medium 2, 2<sup>nd</sup> passage; E – rhizogenesis on ½ MS medium with 2 mg/L of NAA; F – regenerant plants in peat pots.

At the rooting stage, MS medium with half of salt concentration was used. As an inducer of rhizogenesis, 2 mg/L NAA was introduced into the medium. The well-developed single shoots obtained at the previous stage, transferred to the medium for rooting MS with the addition of 2 mg/L of NAA, form roots on 30-40 days of cultivation. It was revealed that for the induction and initiation of root formation, the conglomerates of shoots obtained at the previous stage must be subjected to cold stratification, keeping them in a refrigerating chamber at a low positive temperature (+2 °C) for 5-6 weeks. After that, shoots were passaged on MS rooting medium with addition of 2 mg/L of NAA, where roots were formed on the 30-40<sup>th</sup> days of cultivation (Fig. 2, E). The percentage of rooting of passaged shoots is 49.3%, and when cultivated for a longer period (up to 50 days) reaches 80% (4<sup>th</sup> passage).

When transferring regenerant plants to a soil substrate and their adaptation under *ex situ* conditions, test tube regenerant plants of 2-4 cm in height with well-developed roots were cleared from agar, kept in water for 2 hrs and planted in peat pots with a soil substrate consisting of turf soil and sand in a ratio of 3:1 (Fig. 2, F). The container culture was transferred to a greenhouse with a temperature of 25 °C and a humidity of 70-80%. In 20-30 days after planting, feeding of the established plants was carried out with solutions of the mineral salts of Murashige and Skoog. Further, adapted soil culture was planted in open ground under favorable conditions. The total duration of cultivation from the introduction of primary explants to obtaining regenerant plants was 5-6 months.

As a result, increased number of regenerated plants from one explant with a high percentage (over 60%) of morphogenetically stable regenerants was obtained. It can also be concluded that it is the nodal segments of vegetative shoots that are optimal for microclonal propagation of *B. distachyon*. The regeneration of additional shoots occurs at the base of the node due to activity located in this

zone of the intercalary meristem. A subsequent increase in the intensity of reproduction is achieved by laying additional buds at the base of the shoots obtained as a result of the stimulating action of growth medium growth regulators.

### References

- 1 Seerg Savary, Andrea Ficke, Jean-Noël Aubertot, Clayton Hollier. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security/ Food Security. – 2012. – 22 p.
- 2 Andersen E.J., Shaukat A., Byamukama E., Yen Y., Nepal M.P. Review: Disease resistance mechanisms in plants // Genes. – 2018. – Vol. 9, No. 7. – P. 339.

UDC 604.2

## USE OF MEDICINAL AROMATIC PLANT EXTRACT IN WOOD AND SOME PHYSICAL CHANGE FEATURES

H. Tan<sup>1</sup>, H. Ulusoy<sup>2,\*</sup>, H. Peker<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Forest, Rize Technical Science Vocational School, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, Turkey

<sup>2</sup>Department of Forest, Köyceğiz Vocational School, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey

<sup>3</sup>Forest Industrial Engineering of Department, Forest Faculty, Artvin Çoruh University, Artvin, Turkey  
e-mail: haticeulusoy@mu.edu.tr

**Abstract.** Since the beginning of history, the global world structure and medicinal aromatic plants in our country have been used in very rich fields (Medicine making, perfumery industry etc.). New human and environmentally friendly wood preservative materials are being developed, thereby trying to create an antioxidant / antibacterial product structure in a wide range of areas such as furniture, children's toys and hospitals that are harmless to health. In this study, the extract of Evelik (*Rumex patientia* L.), which is one of the medicinal aromatic plant species and whose antioxidant / antibacterial properties have been reported in the literature, was prepared and its extract was prepared (3%). According to the results of the experiment; The highest air dry specific gravity value is 3% Borax at 30 minutes diffusion (0.69 g/cm<sup>3</sup>), in the lowest control sample; highest retention 3% Borax 30 minutes vacuum at 30 minutes diffusion (3.16%).

**Keywords:** Impregnation, Wood, Technological Properties, Antioxidant, Furniture

It has been reported by the World Health Organization (WHO) that the number of plants used for treatment and as a spice in the world is around 20,000. Extracts from plants are prepared and used as medicine. It dates back to 2700 years. As in the countries of the world, many plants known as medicinal plants among the people found in our country by trial and error method are used in the treatment of diseases. However, the number of plants used for medical purposes is much higher among the public [1, 2]. Medicinal and aromatic plants are an important part of the plants that are traded today. This is an important issue not only in terms of maintaining the continuity of plant species, but also in order to transfer it to future generations in line with the principle of 'sustainable use' and to use it for many years by avoiding the consumption of all natural resources[3]. The main aim of the study is the rapid decrease in forest presence and exposure of synthetic / chemical effects to the environment in which human beings pose serious threats; The fact that wood preservative materials are of chemical / synthetic origin requires the presence of new natural / organic preservatives the ability of the plant extract (3%, 5%) of Evelik (*Rumex patientia* L.) plant, whose antioxidant / antibacterial properties have been determined, has been determined to be impregnated with a vacuum system in various vacuum/diffusion (20-30 minutes, 35-45 minutes) concentrations. Subsequently, by determining some technological features, it is aimed to transform the organic wood

into an antibacterial/antioxidant structure, albeit partially. In this way, this plant extract will be used in many areas (indoor, children's toys, hospitals, furniture in places requiring hygiene, etc.).

Maple (*Acer platanoides* L.) was preferred as the wood type in the study. Evelik (*Rumex patientia* L.) plant, whose antibacterial/antioxidant properties are determined in the literature was used [4]. While preparing the samples, the smoothness, crack, knot of the fiber structure of wood was prepared according to TS 2470/2471 from sapwood without color distortion. The 30-minute vacuum was subjected to diffusion for 30-40 minutes. Experimental samples have been completely dried to prevent the impregnation agent from being affected by wood moisture [5]. Preparation of extract, the residue was washed with 200 ml of hot distilled water and the residue was poured with the help of a pump or another device that would serve as a suction, after drying the porous capsule and the contents in the oven set at 103 °C for 16 hours, then it was cooled in the desiccator and weighed with 0.001 g precision [6]. Retention amount (% Rate), Physical properties (Full / Air Dry Specific Gravity) and Mechanical properties (Bending Strength / Elasticity Module) was calculated. Retention Rate; The amount of retention that is obtained in both the single and double impregnation process of the extract and borax used is given in Tab. 1. Air / full dry specific gravity ( $\text{g/cm}^3$ ) is given in Tab. 2.

Table 1. Retention Rate and Simple Variance Analysis (SVA) Results

<b>Impregnation Material</b>	<b>Vacuum Minute</b>	<b>Diffusion Time (Minute)</b>	<b>Retention Rate (%)</b>	<b>HG</b>
% 3 Evelik	30 Minute	30 Min	0.37	f
		40 Min	0.41	e
% 3 Borax		30 Min	3.16	a
		40 Min	2.75	b
% 3 Evelik+Borax		30 Min	0.71	c
		40 Min	0.65	d

**HG:** Homogeneous groups; the bolded values are high values

When the table is examined; the highest% adhesion was 3% Borax 30 minutes diffusion (3.16%), the lowest 3% evil extract 30 minutes diffusion (0.37%). The plant extract has yielded a positive result both for use alone and for dual use with Borax. Considering the antioxidant / antibacterial structure of the plant extract structure and the positive effect of boron structure on human / environmental health, we can say that it can be used jointly in a wide range of areas, with its strong effect against biotic / abiotic effects and fire retardant effect.

Wood samples impregnated yellow pine wood with boron compounds and kebracodan, and reported that the highest retention occurred at a concentration of 1% [7]. In the study reported that he found the retention values in beech wood (0.49%) in his study of isgin plant extract in various concentrations (1.3%) [8]. In this study, they determined total retention and % retention in the wood material impregnated with tea plant. As a result of their treatment, they found that the lowest % retention was in iroko wood (1.58%) and the highest % retention rate was in beech wood (6.75%). They reported that the lowest total retention was in iroko wood (31.27  $\text{kg/m}^3$ ), the highest total retention value was in beech wood (100.65  $\text{kg/m}^3$ ). According to the retention results; they stated that the organics obtained from the tea plant extract can be used as an impregnation agent in wood [9]. Air / full dry specific gravity values/ Duncan Test results are given in Tab. 2.

Table 2. Air / Full Dry Specific Gravity Values and Duncan Test Results (g/cm<sup>3</sup>)

Wood Type	Extract Concentration	Vacuum Time (Minute)	Diffusion Time (Minute)	Air Dry (g/cm <sup>3</sup> )		Full Dry (g/cm <sup>3</sup> )	
				Avr	St Dv.	Avr	St Dv.
			<b>Control</b>	0.62	2.15	0.58	1.86
Maple Wood	% 3 Evelik Extract	30 Min	30 Min	0.63	1.34	0.61	2.34
			40 Min	0.61	2.12	0.59	5.17
	30 Min		0.69	3.61	0.65	4.49	
	40 Min		0.65	2.53	0.62	5.01	
	% 3 Borax		30 Min	0.64	1.12	0.62	2.85
			40 Min	0.65	2.90	0.62	3.11
	% 3 Evelik+Borax						

Avr: Average: Std Dv: Standard deviation

While both concentrations of plant extract (3%, 5%) showed a partial decrease in use alone, it provided a partial increase in the specific weight value in dual use. This situation; the anatomical structure of wood may be due to its extract structure and pH value. The highest air dry specific gravity value 3% Borax was determined at 30 minutes diffusion (0.69 g /cm<sup>3</sup>) in the lowest control sample. The lowest full dry specific gravity was determined at 5% diffusion (0.56 g/cm<sup>3</sup>) for 30 minutes in Evelik extract.

The impregnation retention rates, exact dry densities and air dry densities of the samples were determined. As a result; In sapelled wood material, which has impregnated the highest impregnation retention rate (6.83 g / cm<sup>3</sup>) with boric acid, the highest dry density value (0.66 g / cm<sup>3</sup>), air dry density value (0.72 g / cm<sup>3</sup>) with beech tree [10]. It reported that diffusion time increased the specific gravity level and obtained a high specific gravity value compared to the control sample; highest air dry specific gravity 20 minutes vacuum in hot plant extract 60 minutes diffusion (0.52 g / cm<sup>3</sup>), 20 minutes vacuum in the lowest wood oil 20 minutes diffusion (0.42 g / cm<sup>3</sup>); reported that the highest full dry specific gravity was 20 minutes vacuum in wood oil, 60 minutes diffusion (0.50 g / cm<sup>3</sup>), and the lowest 20 minutes vacuum in wood oil, 20 minutes diffusion (0.38 g / cm<sup>3</sup>) [11].

Healthy life in the human-environment relationship is provided by the wooden equipment used in the indoor and outdoor spaces where it lives. The natural strength of wood in simple use is not long lasting. This causes huge losses in terms of the country's economy and forest resources. Many of the wood preservatives are of chemical origin, which required orientation towards organic / natural preservatives. Study; Suggestions have been made by determining the various technological features of the Evelik plant, which has an important place in terms of healthy life, and also has antioxidant/ antibacterial properties, in order to determine the level of adhesion and usage areas in wood.

### References

- 1 Yiğit N., Benli M. Antimicrobial activity of thyme (*Thymus vulgaris*) plant, which is widely used in our country // Orlab On-Line Journal of Microbiology-2005. - No. 3, P. 1-8.
- 2 Çenet M., Toroğlu S. Usage areas and methods used for determination of antimicrobial activities of some plants used for therapeutic purposes // Kahramanmaraş Sütçü İmam University Journal of Science and Engineering – 2006. – No. 9 – P. 12-20.
- 3 Güler, S., Ministry of Environment and Forestry Publication // Number:209 -2004-Erzurum, [https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/2009\\_yayin\\_listesi](https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/2009_yayin_listesi).
- 4 Çetin S. Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Plants Growing in Erzurum Province and Among the People Used for Medical Purposes // (Master Thesis), Artvin Coruh University, Institute of Science, Artvin - 2017.

- 5 Baysal E. Effect of Various Boron and WR Compounds on Some Physical Properties of Red Glass Wood // (Master Thesis), Black Sea technical University, Institute of Science, Trabzon - 1994.
- 6 Bal B.C. Investigation of some physical and mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood impregnated with ammonia copper quat (ACQ) impregnation salt // (Master Thesis), Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Institute of Science, Kahramanmaraş - 2006.
- 7 Alkan E. Investigation of physical and mechanical properties of yellow pine (*Pinus sylvestris* L.) wood impregnated with natural impregnations and boron compounds // (Master Thesis), Gümüşhane University, Institute of Science, Gümüşhane - 2016.
- 8 Bahadır Ö. Effect of Isgin (*Rheum Ribes* L.) Plant (Antioxidant/Antibacterial) Extract on the Impregnation Feature and Technological Properties of Wood // (Master Thesis), Artvin Coruh University, Institute of Science, Artvin - 2019.
- 9 Atılğan A., Ersen N., Peker H. (2013). Different Types Of Wood Treated With Tea Plant Extract Retention Values // Kastamonu University Journal of Forestry Faculty – 2013. – No. 13. – P. 278-286.
- 10 Atılğan A. Effect of Plant Extract Dye on Flexural Strength/Elasticity Module in Some Wood Species // Journal of Biological Sciences Research – 2017. - No. 10. – P. 10-13.
- 11 Ceylan Ş. Possibilities of Usage Plant (Antioxidant/Antibacterial) Extract in Wood Industry (Furniture/Construction) // Artvin Coruh University, BAP Coordinator, Project Code: 2017.M82.02.02. – 2020.

UDC 604.2

## ANTIOXIDANT AND BIOLARVICIDAL ACTIVITY OF *ARUM RUPICOLA* VAR. *VIRESCENS*

M. Turan<sup>1,\*</sup>, M. Seçme<sup>2</sup>, R. Mammadov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Art & Science, Pamukkale University, Denizli, Turkey

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey

<sup>3</sup>Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey

e-mail: [muratturan077@gmail.com](mailto:muratturan077@gmail.com)

**Abstract.** This work was designed to antioxidant and larvicidal (against *Musca domestica* and *Culex pipiens*) activities of acetone, methanol and water extracts of different parts (fresh and underground) of *Arum rupicola* var. *virescens* extracts. The antioxidant activities were determined using two assays (DPPH, ABTS radical cation scavenging activity). The determination of contents were evaluated using total phenolics, flavonoid contents and found maximum values  $3.93 \pm 0.49$  (mgGAE/g- extract),  $11.44 \pm 0.33$  (mg QE/g- extract) respectively. Fresh part is more toxic than underground part with against *M. domestica* with  $30.56 \pm 2.78$  (5 mg/mL dose, %), and *Cx. pipiens* after 72 h of exposure with  $0.03 \pm 0.95$  (mg/mL, LC<sub>50</sub>). These results about *A. rupicola* var. *virescens* was showed as source of natural antioxidant and have potential use of pharmaceutical with potential of antioxidant and agricultural industry with potential of pesticide, insecticide activity.

**Keywords:** *Arum rupicola* var. *virescens*, *Musca domestica*, *Culex pipiens*, antioxidant

Free radicals are thought to be directly effective in the formation of many diseases, especially in various disease types such as cancer, diabetes, neurological disorders, hypotension [1,2]. Antioxidants are considered to be possible preservatives that reduce oxidative damage caused by free radicals in the human body. Although the antioxidant chemicals obtained from plants have been working for decades, there are still thousands of plants in nature whose mystery has not been solved [3]. Since prehistoric times, plants have been used not only as food but also in pharmaceutical applications thanks to the chemicals they contain. Many drugs used synthetically are based on a plant [4]. Accordingly, the studies on the plants that have antioxidant, larvicidal, anthelmintic,



antimicrobial etc. effects of the chemicals in their ingredients gain more importance day by day [5]. House flies and mosquitoes are vector creatures that transmit the disease to humans. Especially, mosquitoes are the main vector in the transmission of malaria, dengue fever, yellow fever, filariasis, and various diseases [6]. Control of mosquito larvae often depends on the continuous application of organophosphates (chlorpyrifos, temephos, and fenthion) and insect growth regulators (diflubenzuron and methoprene) [7]. The effective and repeated use of control agents disrupts natural biological control systems and leads to outbreaks of pesticide-resistant insect species. It has also led to undesirable effects, including toxicity to non-target organisms, and raised concerns about the environment and human health [6]. *Arum* genus belonging to the Araceae family and has 28 species from Central Asia to Europe and 14 species, 17 taxa located in Turkey [8,9,10]. Tuber part of *A. rupicola* is used against decoction diabetes [11]. In a study by Özok and Güneş [12], It was found that *A. rupicola* species increased SOD, GPx, CAT activity in rats. The aim of this study larvicidal activity against larvae of *Culex pipiens* and *Musca domestica* as a biolarvicidal with water solvent and antioxidant activity with methanol, acetone, and water solvents extract of *Arum rupicola* var. *virescens* was investigated.

*A. rupicola* var. *virescens* was collected from Tunceli province in July 2019 during the flowering period. The plant material was identified by Dr. Olcay Düşen and stored with voucher specimens (Herbarium No: 1003 M. Turan) at PAMUH in Pamukkale University, Denizli, Turkey. At room temperature dried fresh parts (leaves and fruits), underground parts (stem and root). A beaker with sample and solvent (acetone, methanol, water) was kept in a shaking water bath for 6 hours and filtered. After filtration, the alcohol and water were evaporated. Extracts were kept at -20 °C [13] Antioxidant properties of the extracts were determined by DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl radical) [14] and ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) [15] radical cation scavenging activity assays. Also, total phenolic [16] and flavonoid [17] contents in the extracts were determined. The total phenolic contents in the extracts of *A. rupicola* var. *virescens* were expressed as milligrams of gallic acid equivalents (mgGAE/g- extract), were determined with Folin-Ciocalteu reagent (FCR). The total flavonoid content of the extracts was expressed as mg quercetin (mg QE/g-extract) equivalents per gram of extract with aluminum chloride using the spectrophotometric method. Second-third instars larvae of the *Musca domestica* [18] and *Cx. pipiens* [19] were exposed to various concentrations (0.1, 0.25, 0.5, 1 mg/mL) of the extracts. All assays were performed in 3 replicates. The mean  $\pm$  standard error was analyzed using Microsoft Excel, and LC<sub>50(min)</sub>, LC<sub>50</sub>, LC<sub>50(max)</sub>, LC<sub>90</sub>, and  $x^2$  were made by Probit Analysis in STATPLUS [20] program in larvicidal effect assays.

Since there are many different phytochemicals from the structure of plants, it can be misleading to determine the antioxidant activities of products obtained from plants with a single experiment. Therefore, it should support each other with more than one experiment and the quantitation should be evaluated by experiments [21]. The lower the IC<sub>50</sub> value is the higher the antioxidant activity [22]. The methanol extract of the fresh part ( $2.10 \pm 0.06$  mg/mL, IC<sub>50</sub>) showed the highest antioxidant activity result in the DPPH experiment. Similar to DPPH in the ABTS assay, the highest antioxidant value was obtained in the methanol extract of the fresh part ( $0.45 \pm 0.001$  mg/ml, IC<sub>50</sub>). It was found in the methanol extract of the fresh part with a maximum value of  $3.93 \pm 0.49$  mgGAE/g-extract in the total phenolic contents assay and total flavonoid contents of *A. rupicola* var. *virescens* extracts were determined and the results varied between  $0.20 \pm 0.02$  mg QE/g-extract and  $11.44 \pm 0.33$  mg QE/g-extract (Tab. 1).

In this assay, the larvicidal activity of *A. rupicola* var. *virescens* against *Musca domestica* and *Cx. pipiens* were investigated. In the assays, only water extract was used against 2nd and 3rd instar larvae. In the larvicidal activity against *M. domestica*, the best result was provided in the positive control (Difluban %48 SC, active ingredient: Diflubenzuron, CAS No: 35367-38-5 and fresh part has found to be more toxic with  $30.56 \pm 2.78$  %. Results of larvicidal activity of *A. rupicola* var. *virescens* extract against different instar larvae of *Cx. pipiens* are shown in Tab. 2. The best result was positive

control (Mozkill 120 SC, active ingredient: Spinosad, CAS No: 168316-95-8) and 100% result was observed within 1 hour. After 72 hours of exposure, the fresh part showed the most toxic effect with  $63.89 \pm 2.78$  % ( $0.03 \pm 0.95$  mg/mL, LC<sub>50</sub>) results. Concentration and time of exposure were found to be effective in increasing larvicidal activity. As a result, *A. rupicola* var. *virescens* given very close results to synthetic antioxidant and the results shows that contains sufficient antioxidant and phenolic substance, terms of LC<sub>50</sub> value, suitable for larvicidal studies but the insecticidal study is needed.

Table 1. Antioxidant activity of *A. rupicola* var. *virescens* extracts.

Sample	DPPH *	ABTS *	Total Phenolic Contents**	Total Flavonoid Contents ***
Fresh Part Acetone	2.18 ± 0.015	0.63 ± 0.003	2.54 ± 0.57	6.65 ± 0.28
Fresh Part Methanol	2.10 ± 0.06	0.45 ± 0.001	3.93 ± 0.49	11.44 ± 0.33
Fresh Part Water	2.72 ± 0.019	0.78 ± 0.002	1.37 ± 0.19	0.49 ± 0.02
Underground Part Acetone	2.92 ± 0.001	0.58 ± 0.003	1.45 ± 0.20	0.73 ± 0.08
Underground Part Methanol	2.19 ± 0.001	0.56 ± 0.001	2.33 ± 0.33	0.87 ± 0.04
Underground Part Water	4.23 ± 0.001	0.91 ± 0.001	0.98 ± 0.07	0.20 ± 0.02
BHA	0.03 ± 0.001	0.10 ± 0.001	--	--

\* IC<sub>50</sub>, µg/ml, \*\* mgGAE/g- extract, \*\*\* mg QE/g- extract

Table 2. Statistical values of *A. rupicola* var. *virescens* against mosquitos (*Cx. pipiens*).

	Leaf Part 24 h later	Leaf Part 48 h later	Leaf Part 72 h later	Tuber Part 24 h later	Tuber Part 48 h later	Tuber Part 72 h later
LC <sub>50</sub> (min) (mg/mL)	0.81	0.17	0.0004	0.31	0.42	0.19
LC <sub>50</sub> (mg/mL)	1.23 ± 0.14	0.33 ± 0.14	0.03 ± 0.95	264.12 ± 1.50	0.93 ± 1.18	0.63 ± 0.26
LC <sub>50</sub> (max) (mg/mL)	2.76	0.62	1.88	>10000	>10000	2.09
LC <sub>90</sub> (mg/mL)	24.32 ± 0.41	82.07 ± 1.36	>10000	>10000	2621.80 ± 9.86	>10000
x <sup>2</sup>	2.74	0.24	0.003	0.36	0.03	0.07

x - If the upper cases in the line are the same, there is no statistical difference in Duncan's multiple range test ( $p \leq 0.05$ ). y - If the lower cases in the column are the same, there is no statistical difference in Duncan's multiple range test ( $p \leq 0.05$ ). \* dH<sub>2</sub>O: distilled water \*\*Mozkill 120 SC

### References

1 Mammadov R., Düşen O., Demir Uysal D., Köse E. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts from Tubers and Leaves of *Colchicum balansae* Planchon // Journal of Medicinal Plants Research. - 2009. - No. 3. – P. 767-770.

- 2 Dawidowicz A.L., Wianowska D., Baraniak B. The Antioxidant Properties of Alcoholic Extracts from *Sambucus nigra* L. (Antioxidant Properties of Extracts) // LWT. – 2006. - No. 39. - P. 308–315.
- 3 Mammadov R., Makasçı Afacan A., Uysal Demir D., Görk Ç. Determination of Antioxidant Activities of Different *Urginea maritima* (L.) Baker Plant Extracts. // Iran. J. Chem. Chem. Eng. - 2010. – No. 29. – P. 47-53.
- 4 Kaska A., Çiçek M., Deniz N., Mammadov R. Investigation of Phenolic Content, Antioxidant Capacities, Anthelmintic and Cytotoxic Activities of *Thymus zygoides* Griseb. // Journal of Pharmaceutical Research International. – 2018. - No. 21. – P. 1-13.
- 5 Broadhurst CL, Polansky MM, Anderson RA. Insulin-Like Activity of Culinary and Medicinal Plant Aqueous Extracts *in vitro* // J. Agric Food Chem. – 2000. – No. 48. – P. 849-852.
- 6 Cheng S.S., Huang C.G., Chen W.J., Kuo Y.H., Chang S.T. Larvicidal Activity of Tectoquinone Isolated from Red Heartwood-Type *Cryptomeria japonica* against Two Mosquito Species // Bioresource Technology – 2008. – No. 99. – P. 3617-3622.
- 7 Yang Y.C., Lee S.G., Lee H.K., Kim M.K., Lee S.H., Lee H.S., A Piperidine Amide Extracted from *Piper longum* L. Fruit Shows Activity against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae // J. Agric. Food Chem. - 2002. – No. 50. – P. 3765-3767.
- 8 Fırat M., Karavelioğulları F.A., Aziret A. Geophytes of East Anatolia (Turkey) // Manas Journal of Agriculture and Life Science. - 2015. – No. 5. – P. 38-53.
- 9 Çelemlı Ö.G., Kızılpınar Temizer İ., Altınözlü H. Anatomy, Palynology of Endemic *Cyclamen pseud-ibericum* in Mediterranean Phytogeographic Region of Turkey and Chemical Analysis of Its Tuber Extracts // Hacettepe J. Biol. & Chem. - 2015. – No. 43 – P. 105-113.
- 10 Güner A., Aslan S., Ekim T., Vural M., Babaç M.T. Türkiye Bitkileri Listesi - Damarlı Bitkiler. İstanbul:Nezahat Gökyiğit Vakfı Yayınları, - 2012. – 1290 p.
- 11 Dalar A. Plant Taxa Used in the Treatment of Diabetes in Van Province, Turkey // International Journal of Secondary Metabolite - 2018. - No. 5 – P. 171-185.
- 12 Özok N., Güneş İ. Streptozotosin Kaynaklı Diyabetik Sıçanlarda *Arum rupicola*'nın *in vivo* Antioksidan Potansiyeli - BEU Journal of Science. - 2019. – No. 8. – P. 866-874.
- 13 Yılmaz U., Kaya H., Turan M., Bir F., Şahin B. Investigation the Effect of *Hypericum perforatum* on Corneal Alkali Burns // Cutaneous and Ocular Toxicology. – 2019. - No. 38. – P. 356-359.
- 14 Turan M., Mammadov R. Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, Larvicidal and Anthelmintic Activities and Phenolic Contents of *Cyclamen alpinum* // Pharmacology & Pharmacy. - 2018.- No. 9. – P. 100-116.
- 15 Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay // Free Radic Biol Med. – 1999. -No. 26. – P. 1231-1237.
- 16 Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents // Amer. J. Enol. Viticult. - 1965. – No.16. – P. 144-158.
- 17 Aryal S., Baniya M.K., Danekhu K., Kunwar P., Gurung R., Koirala N. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal // Plants. - 2019.- No. 8. – P. 96.
- 18 Çetin H., Erler F., Yanikoglu A. Larvicidal Activity of Novaluron, a Chitin Synthesis Inhibitor, against the Housefly, *Musca domestica*. // J Insect Sci. - 2006.- No. 6. – P. 50.
- 19 Oz E., Koc S., Dinc Dusen O., Mammadov R., Cetin H. Larvicidal Activity of *Cyclamen* (Myrsinaceae) Extracts Against the Larvae of West Nile Virus Vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. – 2013 - No. 6. – P. 449-452.
- 20 AnalystSoft Inc. Released. Statplus Professional for Windows, Version 5.9.8.5, Walnut, CA: AnalystSoft Inc. - 2015.

21 Turan M., Mammadov R. Antioxidant, Cytotoxic, Larvicidal, and Anthelmintic Activity and Phytochemical Screening by HPLC of *Calicotome villosa* from Turkey // Pharmaceutical Chemistry Journal – 2020. – No. 54. – P. 478–483.

22 Turan M., Mammadov R. UPLC-ESI-MS/MS Screening, Potential of Larvicide and Antioxidant Activity of Bioactive Compounds in *Gagea bohemica* Extracts, Fresenius Environmental Bulletin – 2020.- No. 29. – P. 6292-6302.

UDC 91.911

## CHALLENGES IN BIODIVERSITY CONSERVATION OF KORGALZHYN STATE NATURE RESERVE: UNSUSTAINABLE PRACTICES

A.A. Toktarova<sup>1</sup>, C. Ives<sup>2</sup>, A.S. Seitkan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Higher School of Natural Sciences, Astana International University, Nur-Sultan, Kazakhstan

<sup>2</sup>Faculty of Social Sciences, PhD, University of Nottingham, Nottingham, UK

e-mail: seitkanainur.77@mail.ru

**Abstract.** This study examined the key challenges for biodiversity conservation in the Korgalzhyn State Nature Reserve (KSNR) in Kazakhstan. An understanding of these difficulties is essential in achieving successful conservation outcomes. Semi-structured interviews were conducted with participants who have links to the PA's management and species conservation in Kazakhstan. The results indicated that one of the the main challenges to successful biodiversity conservation in the KSNR are certain human activities such as poaching, over-exploitation of natural resources in areas surrounding the reserve. These problems could be explained by limited environmental awareness and the low socio-economic development in rural areas which dramatically contributed to the unsustainable use of natural resources.

**Keywords:** Protected areas, Kazakhstan, Korgalzhyn State Nature Reserve (KSNR), biodiversity conservation unsustainable practices.

### Introduction

Over the last few decades, management of natural resources and conservation of biodiversity have become a concern across the globe. Biodiversity provides valuable direct and indirect ecosystem services, resiliency, and social relations. Thus, protected areas (PAs) are essential at a national and international level for preservation of biodiversity to maintain healthy ecological function (Brockington et al., 2012).

The KSNR, located in the North Kazakhstan region, is the largest reserve in Kazakhstan and has been included I a category of Pas (IUCN, 2004). It was established in 1974 and covers a surface area of 543,131 hectares (Appendixes 1). The primary goals of the KSNR are preservation of biodiversity and the unique ecosystems by monitoring the ecological condition and providing scientific research and educational activities, and the sustainable use of its natural resources (Mgov.kz, 2015). The KSNR possesses a rich biological diversity with many rare and endangered species. The KSNR wetlands hold of 112 species water birds which are nearly 90% of the whole water birds' population of Kazakhstan (Kor.bk.kz, n.d.). The KSNR is located in the steppe zone of the Central Asian-Indian and Sibir-East-African migratory ways of migratory birds with international ecological value in conservation of species. There are more than 500 species of plants, more than 1400 species of water and terrestrial animals including 42 mammal species and 344 bird species (Unesco.org, 2012).

The aim of this study is to examine the challenges of the biodiversity conservation of the KSNR.

### Methodology

Semi-structured interviews were conducted to examine challenges in achieving successful conservation outcomes in the KSNR. They were based on the challenges of PAs revealed by the literature review. Representatives of the KSNR and local residents were interviewed. Korgalzhyn administrative village was chosen as the study area. It is a centre of Korgalzhyn region with a large population in close proximity to the reserve area boundary. The interview lasted for between approximately 26 minutes and 1 hour 7 minutes and permission was asked from the respondents to record their interview. The recorded interviews were translated from Kazakh to English and transcribed. The transcribed semi-structured interviews were then analysed to identify common themes (Bryman, 2016). Specific themes relating to parts of the text were recognized and formed into groups.

In order to clarify direct references to themes evaluated by the question, descriptive coding was applied to each response (Appendix 1, 2). Then, to establish connections between responses and to clarify common subjects, all responses to questions and subjects within them were reviewed. This review process identified a wide range of other subjects within the responses, forming various themes to clarify different ideas covered by responses to the questions. Here, we present interview results concerning unsustainable practices, such as hunting and fishing.

### Results

The majority of participants (9 out of 12) expressed concern about the commercial fishing which had overused the natural resources and led to a decline of fish resources. One interviewee (N) stated that *"in one lake worked for 6-7 fishing companies during the year without any rest. Fishing was conducted without proper control from environmental agencies or other ichthyological inspections. Some water bodies are operated all year round without any rest. I think the situation is becoming worse on the river Nura. The entrance to the area is all blocked by fish networks.* Respondent x stated that *"I can say that only the protected lakes are rich in fish, but on the rest of the lakes, fish stocks are severely undermined"*.

The study found that illegal activities being carried out within the reserve and surrounding areas such as poaching and uncontrolled hunting are some of the key challenges to biodiversity conservation in the reserve.

11 out of 12 informants expressed concern about poaching in this region. Interviewer I stated that *"543 thousand hectares is a huge territory, unprotected by any gorges, natural barriers and everyone can access the protected area from everywhere on a snowmobile or by car and it is very difficult to protect such a huge area ... and people hunting for Saiga antelope although it is an endangered mammal"*.

Interviewee B note other environmental problems *"Large clusters of a migrant game on the local water bodies during the spring and autumn always attracted hunters here, not by accident at the territory are there 10 hunting farms"*. Interview F stated that *"In recent years, the number of attributable hunting farms have increased, cases of poaching have occurred frequently, and official hunting is sometimes still performed in violation of all rules and regulations. All these violations have led to a large number of detainees, as well as to a disturbance factor affecting bird populations in the nesting period"*.

The fact of poaching supported by another interviewee (P) who stated that *"poachers come to protected lakes not only catch to fish, mammals but also for Artemia ... it is really valuable on the black market and it can bring big money. They are illegally sold to China."*

Artemia Salina is brine shrimp and found in salt lakes (Harzsch and Glötzner, 2002)

Respondents were asked to suggest the reason for poaching. The respondent (B) said that *"young people can do everything for money. The money is the main reason why people poach. They don't have any respect for nature"*. However, participant D suggested that *"I think that ... poaching is not only a source of money to feed their family, some people in society poached in order to underline their position, make hunting trophies"*.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

A number of participants suggested that uncontrolled hunting is a threat to biodiversity conservation. Interviewee (C), for example, commented that *'hunters shoot birds or other animals in surrounding areas and it is legal but I am sure 95% of them don't know which birds, animals are endangered. They shot any birds. It is like when you are at home... I mean in the protected area nobody touches you but if go out from your home ... there is a risk that you will be shot... and we physically couldn't control every hunter'*.

The result indicates that poaching and uncontrolled hunting is a significant threat to conservation.

### **Discussion**

The present study found that the development of anthropogenic human activities and over-exploitation of natural resources within and around reserve areas (fishing, land-use change, agricultural practices, poaching and unsustainable hunting) put pressure on the KSNR biodiversity and ecosystem function. These threats challenge the integrity and stability of the ecosystem and biodiversity conservation. For example, Saiga Antelopes (*Saiga tatarica*) were targeted by poachers for their meat and valuable horns. They are widely used for medical purposes in China and are consequently a significant source of income (Bekenov et al., 2001).

These findings agree with Kamp et al., (2016); Milner-Gulland, (2015); Bekenov et al., (2001); UNDP (2016) all of which identified that intense poaching pressure on endangered species such as Saiga Antelopes and Brine Shrimp (*Artemia*) are the highest threats to biodiversity conservation in the KSNR. The results seem to be consistent with other research which considered poaching and unsustainable hunting to be an even greater threat to biodiversity particularly threatened species and influencing mammal species extinction. This is serious conservation issue around the world (Ormsby and Mannle, 2006; Bekenov et al., 1998; Robinson and Milner-Gulland, 2003; Schielzeth et al., 2008; Okello and Kiringe, 2004; Linkie et al., 2003).

One of the main reasons for poaching can be commercial and another is obtaining a hunting trophy. This is supported by Muth and Bowe, (1998); Meduna et al., (2009) who state that trophy poaching is one of the motivations for poaching. However, according to Kühn, et al., (2009) the Saiga (*tatarica*) exploitation is directly linked to the poverty and socio-economic situation in the KSNR. The lack of employment opportunities in countryside areas have triggered the poaching of the Saiga because it is both a source of income and food (ibid).

On the other hand, hunting has a long history in human development and is valued as a cultural tradition in Kazakhstan (Bekenov et al., 1998). Therefore, it could be controversial to completely eliminate hunting. To this end, probably increasing the amount of fines for poaching, reducing quotas for hunting and more effective awareness campaigns about sustainable hunting management might reduce the hunting rate.

Another challenge to conservation in the KSNR is fish overexploitation outside safe biological limits for commercial purposes in unprotected areas of the reserve. This situation reduces fish stock and makes their recovery difficult. The fishing practices in unprotected wetlands of the KSNR significantly impact on the reduction of fish stock (Burlibayeva et al., 2007). This alters the ecosystem function and has negative implications (Agardy, 2000; Nath and Deka, 2012; Paterson and Chapman, 2009).

Thus, the commitment of local organisations to controlling fishing is questionable, the overexploitation of fish resources continues to be an issue and was a concern raised by the majority of interview respondents.

However, results indicate that it is challenging to prevent the unsustainable use of natural resources by locals due to the area's low economic development being strongly linked with nature conservation outcomes. The regional economy contributed to these issues especially because of limited unemployment opportunities and economically distressed areas challenging the priority given to biodiversity conservation. This result is consistent with Linkie et al., (2003) who found that poverty

triggered the development of illegal activities to nature. Without a change in poverty reduction strategies, 'biological diversity will pay the price for development yet again, and the human subsidy from nature will tax biodiversity to death' (Anderson cited in Sanderson and Redford, 2003:389).

Therefore, enhancement of the region's economy and the preservation of biodiversity are two distinct objectives and could be achieved with two separate approaches but there is a link in practice. It means that these problems should be solved together with an integrated approach to natural resource management based on environmental, social and scientific disciplines (Adams et al., 2004, Carlos et al., 2013). In this regard, Steinmets et al., (2014) identified the key components as raising awareness, offer opportunities for action, and generate social pressure against poaching. Such an approach has proved effective, reducing poaching by 88% in the Kuiburi National Park, Thailand.

It is believed that implementation of these measures could be the initial stages in combatting the unsustainable exploitation of natural resources in the KSNR but a more complex solution seems to be required to tackle these issues. Therefore, this needs to be taken into account by conservation managers during the development of the management plan for further sustainable development and effective biodiversity conservation. Therefore, legislation enforcement, strict penalisation, and increasing awareness from childhood thereby giving locals time to change their low cultural mentality in a positive way to value nature all could be required to deal with the human pressures presented above.

### **Conclusion**

The present study was undertaken to understand challenges in biodiversity conservation in the KSNR. It is clear that biodiversity conservation faces a number of different obstacles such as here poaching, commercial fishing, and illegal hunting. These negative human activities alter the ecosystem's function within the boundaries and remain one of the main challenges of biodiversity conservation in the KSNR. Therefore, it is necessary to increase the implementation of policies to enhance sustainable development in the natural reserve management, to promote environmental legislation to force to sustainable development of the reserve, to provide educational activities and formation of an ecological culture.

### **References**

- 1 Adams, W.M., Aveling, R., Brockington, D., Dickson, B., Elliott, J., Hutton, J., Roe, D., Vira, B. and Wolmer, W., 2004. Biodiversity conservation and the eradication of poverty. *Science*, 306(5699), pp.1146-1149.
- 2 Agardy, T., 2000. Effects of fisheries on marine ecosystems: a conservationist's perspective. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), pp.761-765.
- 3 Bekenov, A.B., Blank, D.A., Grachev, Y.A. and Plakhov, K.N., 2001. . Kazakhstan. *Antelopes. Part 4: North Africa, the Middle East, and Asia. Global Survey and Regional Action Plans*, p.134.
- 4 Bekenov, A.B., Grachev, I.A. and Milner-Gulland, E.J., 1998. The ecology and management of the saiga antelope in Kazakhstan. *Mammal Review*, 28(1), pp.1-52.
- 5 Brockington, D., Duffy, R. and Igoe, J., 2012. *Nature unbound: conservation, capitalism and the future of protected areas*. Routledge.
- 6 Bryman, A., 2016. *Social research methods*. Oxford university press.
- 7 Burlibayeva, M., Kurochkina, L., Erohova, S. and Ivashenko, A. (2007). *The globally significant wetlands of Kazakhstan, Tengiz-Korgalzhyn lakes system*. Astana: UNDP in Kazakhstan.
- 8 Carlos, A.D., Teel, T.L., Manfredi, M.J. and Mathur, V.B., 2013, January. Building capacity to enhance protected area management effectiveness: A current needs assessment for the asian context. In *The George Wright Forum* (Vol. 30, No. 2, pp. 154-162). George Wright Society.
- 9 Harzsch, S. and Glötzner, J., 2002. An immunohistochemical study of structure and development of the nervous system in the brine shrimp *Artemia salina* Linnaeus, 1758 (Branchiopoda,

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

Anostraca) with remarks on the evolution of the arthropod brain. *Arthropod Structure & Development*, 30(4), pp.251-270.

10 IUCN (World Conservation Union), 2004. The Durban Action Plan: Vth IUCN World Parks Congress, Durban, South Africa. IUCN, Gland, Switzerland

11 Kamp, J., Koshkin, M.A., Bragina, T.M., Katzner, T.E., Milner-Gulland, E.J., Schreiber, D., Sheldon, R., Shmalenko, A., Smelansky, I., Terraube, J. and Urzaliev, R., 2016. Persistent and novel threats to the biodiversity of Kazakhstan's steppes and semi-deserts. *Biodiversity and conservation*, 25(12), pp.2521-2541.

12 Kühn, A., Balinova, N., Bykova, E., Arylov, Y.N., Esipov, A., Lushchekina, A.A. and Milner-Gulland, E.J., 2009. The role of saiga poaching in rural communities: linkages between attitudes, socio-economic circumstances and behaviour. *Biological Conservation*, 142(7), pp.1442-1449.

13 Linkie, M., Martyr, D.J., Holden, J., Yanuar, A., Hartana, A.T., Sugardjito, J. and Leader-Williams, N., 2003. Habitat destruction and poaching threaten the Sumatran tiger in Kerinci Seblat National Park, Sumatra. *Oryx*, 37(1), pp.41-48.

14 Meduna, A.J., Ogunjinmi, A.A. and Onadeko, S.A., 2009. Biodiversity conservation problems and their implications on ecotourism in Kainji Lake National Park, Nigeria. *Journal of Sustainable Development in Africa*, 10(4), pp.59-73.

15 Mgov.kz. (2015). *The Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Protected areas*. [online] Available at: <http://mgov.kz/ru/lesnoe-hozyajstvo-i-zhivotnyj-mir/> [Accessed 21 Aug. 2018].

16 Milner-Gulland, E. J. "Catastrophe and hope for the saiga." *Oryx* 49, no. 4 (2015): 577.

17 Muth, R.M. and Bowe Jr, J.F., 1998. Illegal harvest of renewable natural resources in North America: Toward a typology of the motivations for poaching. *Society & Natural Resources*, 11(1), pp.9-24.

18 Nath, B. and Deka, C., 2012. A study on fish diversity, conservation status and anthropogenic stress of Chandubi tectonic lake, Assam, India. *J. Bio. Innov*, 1(6), pp.148-155.

19 Okello, M.M. and Kiringe, J.W., 2004. Threats to biodiversity and their implications in protected and adjacent dispersal areas of Kenya. *Journal of Sustainable Tourism*, 12(1), pp.55-69.

20 Ormsby, A. and Mannle, K., 2006. Ecotourism benefits and the role of local guides at Masoala National Park, Madagascar. *Journal of Sustainable Tourism*, 14(3), pp.271-287.

21 Paterson, J.A. and Chapman, L.J., 2009. Fishing down and fishing hard: ecological change in the Nile perch of Lake Nabugabo, Uganda. *Ecology of Freshwater Fish*, 18(3), pp.380-394.

22 Robinson, S. and Milner-Gulland, E.J., 2003. Political change and factors limiting numbers of wild and domestic ungulates in Kazakhstan. *Human Ecology*, 31(1), pp.87-110.

23 Sanderson, S.E. and Redford, K.H., 2003. Contested relationships between biodiversity conservation and poverty alleviation. *Oryx*, 37(4), pp.389-390.

24 Schielzeth, H., Eichhorn, G., Heinicke, T., Kamp, J., Koshkin, M.A., Koshkin, A.V. and Lachmann, L., 2008. Waterbird population estimates for a key staging site in Kazakhstan: a contribution to wetland conservation on the Central Asian flyway. *Bird Conservation International*, 18(1), pp.71-86.

25 Steinmetz, R., Srirattaporn, S., Mor-Tip, J. and Seaturien, N., 2014. Can community outreach alleviate poaching pressure and recover wildlife in South-East Asian protected areas?. *Journal of Applied Ecology*, 51(6), pp.1469-1478.

26 UNDP. (2016). *Saving the Saiga by United Nations Development Programme on Exposure*. [online] Available at: <https://stories.undp.org/saving-the-saiga> [Accessed 8 Aug. 2018].

27 Unesco.org. (2012). *Korgalzhyn | United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*. [online] Available at: <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/ecological-sciences/biosphere-reserves/asia-and-the-pacific/kazakhstan/korgalzhyn> [Accessed 21 Aug. 2018].



UDC 604.2

**EFFECTS OF *PAEONIA KESROUANENSIS* ON CELL PROLIFERATION AND mRNA EXPRESSIONS OF APOPTOSIS RELATED GENES IN Caco-2 COLORECTAL CARCINOMA CELLS**

M. Seçme<sup>1</sup>, M. Turan<sup>2</sup>, R. Mammadov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey,

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Art & Science, Pamukkale University, Denizli, Turkey

<sup>3</sup>Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey

e-mail: [mehtersecme@gmail.com](mailto:mehtersecme@gmail.com)

**Abstract.** Recent data about cancer incidence have demonstrated that colorectal cancer is the third most common type of cancer in western countries and the fourth most common cause of cancer-related death. Plants have many biological active molecules and pharmaceutical activities such as anti-cancer, antioxidant, and anti-inflammatory. The study aims to determine the therapeutic effects of *Paeonia kesrouanensis* methanolic underground extract on cell proliferation and mRNA expression changes in Caco-2 colorectal cancer cells under in vitro conditions. The effects of the extract on cell viability in time and dose dependent manner were detected by XTT method. Total RNA was isolated by Trizol-reagent and subsequently mRNA cDNA was synthesized. Bax, Bcl-2, and caspase-3 expression changes between control and dose groups were evaluated by the Real-Time PCR method. The extract decreased cell viability and IC<sub>50</sub> value of extract in Caco-2 cells was determined as 65.153 µg/ml at 24<sup>th</sup> hour. The extract also increased Bax and caspase-3 mRNA expression and decreased Bcl-2 mRNA expression in colorectal cancer cells. According to results, *Paeonia kesrouanensis* extract inhibits the proliferation of colorectal cancer cells and its effect mechanisms may be associated by regulating the expression of apoptosis related genes. In conclusion, this study can contribute further and detailed studies about *Paeonia kesrouanensis* extract and its therapeutic potential for colorectal cancer treatment.

**Keywords:** *Paeonia kesrouanensis*, Caco-2 cells, colorectal cancer.

Cancer is a multi-step disease in which there are metabolic and behavioural changes characterized by autonomous, excessive, and uncontrolled proliferation of cells, invading distant tissues and organs and forming metastases [1]. Molecular changes include point mutations, chromosomal rearrangements, microsatellite instability, hypermethylation or inactivation of promoter regions of tumor suppressor genes, activation of oncogenes and suppression apoptosis, etc. [2]. Colorectal cancer is the third most common cause of death from cancer. Colorectal cancer is responsible for approximately 9% of cancer-related deaths, which are common worldwide, especially in developed regions in North America, Western Europe, Scandinavia, New Zealand, and Australia [3]. Despite advances in diagnosis and treatment, there are still unclear points in cancer disease. For this reason, cancer remains the leading cause of death. In addition to all these treatment methods, herbal and nutritional supplements within the scope of alternative and complementary therapy are used in cancer patients to strengthen immune functions and reduce the side effects associated with treatment [4].

Apoptosis is one of the most remarkable targets for cancer treatment and drug discovery. Many novel studies have opened new discoveries into potential new anticancer agents such as plant derived biological active molecules and therapeutic agents [5]. *Paeonia* have been utilized as medicinal and herbal plants. For instance, the Ottomans used *Paeonia* sp. For the treatment of internal diseases, pains, and epilepsy [6,7]. The genus *Paeonia* is also one of the most important crude drugs and extensive medical use in Chinese traditional medicine used against disease such as atopic eczema as well as for anticoagulant, anti-inflammatory, analgesic, and sedative purposes [8,9]. This study aims to investigate the effects of methanolic extract from the underground of *Paeonia kesrouanensis*

on cell proliferation and expressions of apoptosis related genes in Caco-2 colorectal cancer cells under *in vitro* conditions. In this context, the following method steps have been applied.

**Cell Culture:** In this study, Caco-2 colorectal cancer cells were used. Cells were cultured in DMEM medium supplemented with 10% FBS, 20 units/ml penicillin, and 20 µg/ml streptomycin and maintained in a humidified atmosphere of 95% air and 5% CO<sub>2</sub> at 37 °C. Colorectal cancer cells were treated with 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, and 250 µg/ml extract during 24 h to understand the antiproliferative effects of the extract with time and dose-dependent manner.

**XTT Assay:** Cytotoxic activity of the extract in Caco-2 colorectal cancer cells were determined by using XTT assay according to manufacturers' instruction. Cells were seeded in 96-well plates at a number of  $2 \times 10^4$  cells/well. After 24 h of incubation, the cells were treated with different concentrations of extract and incubated for 24h. Formazan formations were quantified spectrophotometrically at 450 nM (reference wavelength 630 nM) using a microplate reader (Thermo). Cell viability was calculated using the background-corrected absorbance as follows: Viability (%) = A of experiment well / A of control well x 100.

**Total RNA isolation, cDNA Synthesis and RT-PCR:** Total RNA was isolated with TRIzol reagent (Invitrogen, USA) according to manufacturer instructions. Complementary DNA (cDNA) synthesis was performed using WizScript™ cDNA Synthesis Kit, according to the manufacturers' instructions. Quantitative expression analysis of *Bax*, *Bcl-2* and *caspase-3* were determined by Real-Time PCR (RotorGene 6000, Qiagen). *Beta-actin* was used as housekeeping gene for the normalization of RT-PCR data.

**Statistical Analysis:** RT-PCR data were analysed with the  $\Delta\Delta CT$  method and quantitated with an online program (<https://geneglobe.qiagen.com/tr/analyze/>). The comparison of the groups has been performed with "Volcano Plot" analysis, from "RT2- Profiles™ PCR Array Data Analysis", which is assessed statistically using the "Student t-test". ( $p < 0.05$  was evaluated as significant statistically).

The results obtained from these experimental steps are as follows:

**XTT Assay:** After the treatment of extract to the Caco-2 colorectal cancer cells, the % cell viability was determined via XTT assay according to time and dose dependant manner. The decrease in cell viability of the colorectal cancer cells was observed in parallel with the increasing dose rate of extract. In this study, *Paeonia kesrouanensis* extract decreased cell viability and IC<sub>50</sub> value of extract in Caco-2 cells was determined as 65.153 µg/ml at 24<sup>th</sup> hour. In the next RT-PCR assay experiment step, the IC<sub>50</sub> dose was compared with the control group. Cell viability (%) of Caco-2 cells were given in figure 1.

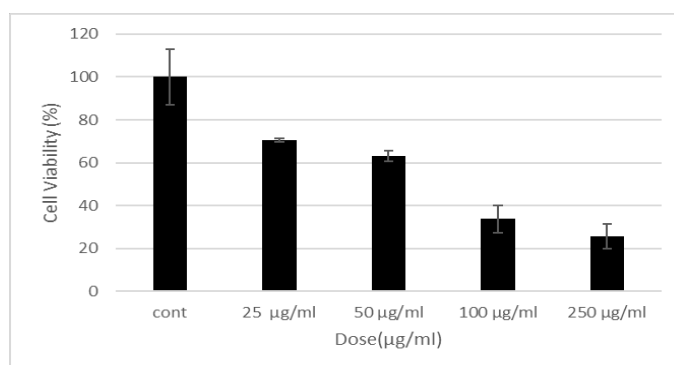


Figure 1. Cell viability of Caco-2 colorectal cells after treatment with different concentration of extract between 25 µg/ml and 250 µg/ml were measured by XTT assay

**Real-Time PCR Assay:** Following total RNA isolation from control and extract treated cells, the cDNA synthesis was performed. Real-time PCR was used to perform the expression analysis of *Bax*, *Bcl-2*, and *caspase-3* according to the WizPure™ qPCR Master (SYBR, Biorad) protocol. The extract increased *Bax* and *caspase-3* mRNA expression and decreased *Bcl-2* mRNA expression in

colorectal cancer cells. Relative fold changes of mRNA expressions of apoptosis related genes were given in figure 2.

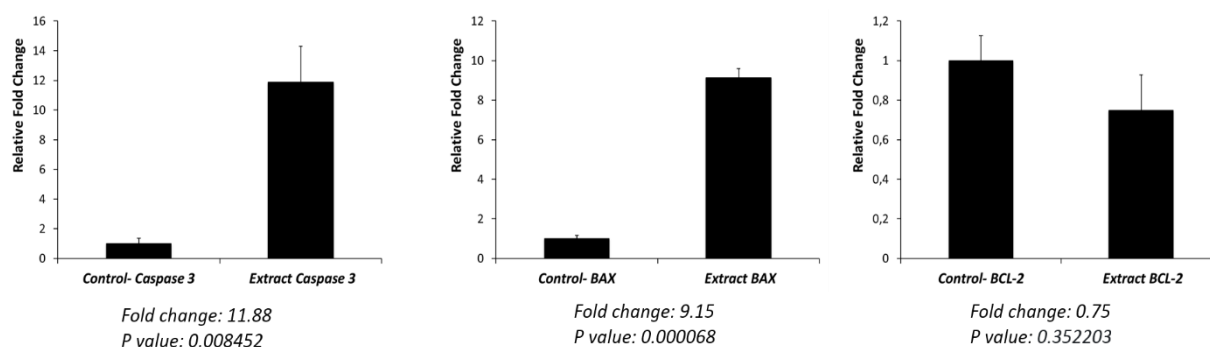


Figure 2. mRNA expression changes of *Bax*, *Bcl-2* and *caspase-3* genes in control and extract-treated Caco-2 colorectal cancer cells. Expression increasing in Caspase-3 and Bax were found statistically significant ( $p= 0.008452$  and  $p= 0.000068$ , respectively) and decreasing BCL-2 expression in the dose group was found statistically insignificant ( $p>0.05$ )

Mutations in oncogenes, tumor suppressor genes, DNA repair genes and instability of chromosomes and microsatellites, epigenetically changes and expression changes in these genes in the genome have a role in the carcinogenesis of colorectal cancer [10,11]. In addition, drug resistance is another major problem in the treatment [12,13]. Therefore, new therapeutic agents obtained from plants that target different cellular signalling pathways of cancer cells with fewer side effects on normal cells are being studied a lot. Low toxic activities of these substances are very attractive research topics for the scientist to find potential and novel anticancer agents [10-13]. There have been several studies on the antioxidative and pharmaceutical activities of *Paeonia* species of Chinese origin. For instance, in a study [8], a herbal mixture was used as a tea in China consisting of many Chinese plants including *Paeonia* species [7]. It was reported that *Paeonia suffruticosa* Andrews extracts have tyrosinase inhibition and anti-proliferative activity on A2058 human melanoma cells [14]. First data about *Paeonia kesrouanensis* and its anti-cancer effects were presented in the literature with this study. In conclusion, these results showed that *Paeonia kesrouanensis* extract may inhibit colorectal cancer cell proliferation via regulating mRNA expressions of apoptosis related genes. These results will be researched with further detailed *in vitro* and *in vivo* molecular biological studies.

### References

- 1 Merlo L.M., Pepper J.W., Reid B.J., et al. Cancer as an Evolutionary and Ecological Process // Nat Rev Cancer. - 2006. - No. 6. - P. 924-935.
- 2 Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation // Cell. -2011.- No. 144. - P. 646-674.
- 3 Siegel R., Miller K.D. Jemal A. Cancer Statistics, 2020 // CA Cancer J Clin. - 2020. - No.70. - P. 7-30.
- 4 Vogelzang N.J., Rusthoven J.J., Symannowski J., Denham C., Kaukel E., Ruffie P., Gatzemeimer U., Boyer M., Emri S., Managold C., Niyikiza C., Paoletti P. Phase II Study of Pemetrexed in Combination with Cisplatin Versus Cisplatin Alone in Patients with Malignant Pleral Mesothelioma // J Clin Oncol. -2003. - No. 21. - P. 2636-2644.
- 5 Wong R.S.Y. Apoptosis in Cancer: from Pathogenesis to Treatment // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. -2011. -No. 30(1).-P.87.
- 6 Lew E. Reconstructed Materia Medica of the Medieval and Ottoman Al-Sham. // J Ethnopharmacol -2002. -No. 30.-P. 167-179.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

- 7 Sener B., Başer K.H. Essential Oil Compositions and Antioxidant Properties of the Roots of Twelve Anatolian *Paeonia* Taxa with Special Reference to Chromosome Counts // Pharm Biol. - 2010. -No. 48. - P. 10-16.
- 8 Kirby A.J, Schmidt R.J. The Antioxidant Activity of Chinese Herbs for Eczema and of Placebo Herbs // I. J Ethnopharmacol.-1997. -No. 56. - P. 103–108
- 9 Mutlugil A. Pharmacognosic Researches on the Underground Parts of *Paeonia daurica* Andrews. - PhD thesis for the Institute of Health Sciences of Gazi University, Ankara, Turkey -1989.
- 10 Koosha S., Mohamed Z., Sinniah A., Alshawsh M.A. Investigation into the Molecular Mechanisms Underlying the Anti-proliferative and Anti-tumorigenesis Activities of Diosmetin against HCT-116 Human Colorectal Cancer // Sci Rep. -2019. - No. 9. - P. 5148.
- 11 Focaccetti C. Bruno, A., Magnani, E., Bartolini, D., Principi, E., Dallaglio, K., Bucci, E. O., Finzi, G., Sessa, F., Noonan, D.M., Albini, A. Effects of 5-Fluorouracil on Morphology, Cell Cycle, Proliferation, Apoptosis, Autophagy and ROS Production in Endothelial Cells and Cardiomyocytes // PloS One. -2015. -No. 10. - P.- e0115686
- 12 Zhang L., Song R., Gu D., Zhang X., Yu B., Liu B., Xie J. The Role of GLI1 for 5-Fu Resistance in Colorectal Cancer // Cell Biosci. -2017. - No. 13. - P. 7-17.
- 13 Koosha S., Alshawsh, M., A., Looi C., Y., Seyedan A., Mohamed Z. An Association Map on the Effect of Flavonoids on the Signaling Pathways in Colorectal Cancer // International Journal of Medical Sciences - 2016. - No. 13. -P. 374.
- 14 Lin D., Wang S.,H., Song T.,Y., Hsieh C.,W., Tsai M.,S. Safety and Efficacy of Tyrosinase Inhibition of *Paeonia suffruticosa* Andrews Extracts on Human Melanoma Cells // J. Cosmet. Dermatol. -2019. -No.18.- P.1921-1929.

UDC 604.2

## AN INNOVATIVE WAY TO USE AN EXTRACT THE VITICULTURE BY-PRODUCTS

**Z.M.Shakiryanova, A.A. Saparbekova**

*M.Auezov South-Kazakhstan University, Shymkent*

*e-mail: zulya\_sun@mail.ru*

**Abstract.** Nowadays using of the viticulture by-products can play key role as natural additive with antioxidant effect for favourable influence of phenols on human health. Also as an agent to stabilize the color of meat products; however, usage of these additives at high levels could lead to toxicity and cancer originating from the formation of nitrosamines. Currently, application of natural preservatives in order to reduce the nitrite content in meat products is increasing.

Beef and horse sausages are one of the popular foodstuffs, but is vulnerable to microbial contamination, lipid oxidation, color changes and off-odors and flavours during storage. It was important to investigate the effect of grape seeds polyphenols extract on chemical composition, lipid oxidation and microbial growth. No doubt, the effectiveness of application of an extract as natural antioxidant with idea to reduce using nitrite and other additives to processed meat basically beef and horse sausage it is very economically effective from local winemaking industries and application it in development of new product with improved qualities and with less harm to the health of people.

**Keywords:** *extract, viticulture, by-products, antioxidant effect, processed meat products*

### *Ways of preparation extract from viticulture byproducts*

Grape (*Vitis vinifera*) is one of the largest fruit crops in the world, with an approximate annual production of 61 million metric tons (FAO STAT Database). The main by-products are collected during destemming (stems), grape crushing, and pressing (skins, seeds, and lees). Grape pomace consists mainly of peels, stems, and seeds and accounts for about 20% of the weight of the grape

processed into wine. Recent investigations have stressed the importance of by-products from wine processing as plant materials particularly rich in a wide range of polyphenols. The effect of drying temperature (60, 100, and 140 °C) on the polyphenols' content and antioxidant activity of red grape pomace peels was studied. [1].

Although in one of the relevant study was aim to determine the total phenolic contents and antibacterial effects of grape pomace extracts (cultivars Emir and Kalecik karasi) against 14 bacteria, and the effects of the extracts on the growth and survival of two of the bacteria during storage. The total phenolic contents of grape pomace of Emir and Kalecik karasi cultivars extracted with acetone/water/acetic acid (90:9.5:0.5) were 68.77 and 96.25 mg GAE g<sup>-1</sup>, respectively. The agar well diffusion method was used to test the antibacterial activity of the extracts at 1, 2.5, 5, 10 and 20% (w/v) concentrations in methanol on spoilage and pathogenic bacteria including *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Yersinia enterocolitica*. All the bacteria tested were inhibited by extract concentrations of 2.5, 5, 10 and 20%, except for *Y enterocolitica* which was not inhibited by the 2.5% concentration. [2],[3].

*Agiorgitico* red grape pomace by-products were dehydrated by air drying and accelerated solar drying and sequentially extracted by three different extraction methods using water, water:ethanol (1:1) and ethanol as solvents. The methods include microwave assisted (MAE) and ultrasound assisted extraction (UAE) and the conventional Soxhlet extraction (SE)[4].

Other research evaluated the release of polyphenols, the solubilisation of carbohydrate, and the antioxidant capacity of these grape by-products after enzymatic reaction with carbohydrases (cellulolytic and pectinolytic activities) and tannase for 24 h. The use of tannase in these by-products, and pectinase in grape pomace changed the galloylated form of catechin to its free form, releasing gallic acid and increasing the antioxidant activity. In grape pomace, cellulase treatment was not efficient for phenolic release and antioxidant activity improvement. [5]. Also one of the effective approach extraction in a semi-batch extraction process. Methanol was used as solvent and the raw material studied consisted of skins of the tempranillo grape, which was obtained from the pomace from red wine vinification. The results show large diffusional effects due to strong control from the mass transfer[6].

In contrast to mentioned above methods was proposed new method for grape pomace application in food industries based on the ultrasound-assisted extraction of phenolics compounds. Dehydration of grape pomace is the first step before extraction. [7].Also, was proposed more optimized method of grape pomace application in food industries, based on the microwave-assisted extraction of phenolic compounds followed by their encapsulation by spray drying.[8].

Latest research aims to prolong the storage stability of polyphenols, obtained from grape pomace, using a spray drying-based microencapsulation technique. The microcapsules obtained under optimal conditions were stored at two different relative humidities (33% and 52%) during 75 days. [9].

#### *Application of extract of the viticulture by-products wit antioxidant effect in processed meat products in Kazakhstan*

The consumers in Kazakhstan like meat products for their characteristic sensory properties, while some prefer them for their durability and minimal storage requirements. Microbially, these are highly stable products. However, after an extended storage, another factor comes into play that ultimately causes spoilage of these products, and that is the oxidation of fats. This undesirable tendency in dry meat products is typically protected by the addition of antioxidants. The viticulture by-products can play key role as natural additive with antioxidant effect for favourable influence of phenols on human health.

It is possible to apply knowledge and obtained results in antioxidant activity of extract of grape pomace in appropriate way. One of the proposed method was use of extract from blue grapes in the manufacturing of dry sausages in Czech Republic. The objective of this study was to evaluate the effect of adding a powdered extract of grapes on the quality of Poličan dry fermented sausages, and Vysočina dry non-fermented sausages. Samples of these meat products were prepared by the Department of Meat Hygiene and Technology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno [10].

Beef sausage is one of the popular foodstuffs, however, is vulnerable to microbial contamination, lipid oxidation, color changes and off-odors and flavours during storage. It was important to investigate the effect of grape seeds polyphenols extract (GPE) on chemical composition, lipid oxidation and microbial growth in raw beef sausage which was made with (0.01%) or without nitrite during frozen storage at -18°C for 3 months. GPE was added by 0.02 and 0.04% to beef sausage during making sausage [11].

Moreover fruit pigments have always incorporated the natural pigments of fruits, vegetables and spices into their dietary requirements. Naturally occurring red pigments in plants are carotenoids, anthocyanins and betacyanins. Natural pigments, apart from colour, provide added properties and are therefore considered to be bioactive constituents. Red natural colorants are one of the most widely used in the food industry. The interest in these pigments lies in the enhancement of the healthy effects of the diet. In this context, attention is given to carotenoids, anthocyanins and betacyanins, with emphasis on the basic chemical and biochemical attributes and wide-ranging health-promoting benefits of these pigments. Thus, in this review, were systematically present the advantages and limitations of these natural pigments as food colorants in relation to their physico-chemical properties, reactivity and bioactivity[12].

An addition important to underline the effect of different levels of red grape pomace (1 and 2%, w/w) on the color changes, lipid oxidation (TBARS), antioxidant activity, microbial counts, total phenol content and sensory attributes of the sausages formulated with various levels of sodium nitrite (30, 60 and 120 mg/kg). It was found that the addition of grape pomace (1%, w/w) in combination of reduced nitrite levels to the beef sausage samples reduced TBARS content and the degree of lipid oxidation. Antioxidant activity and total phenol contents were further evaluated based on DPPH scavenging activity method. A significant reduction in lightness ( $L^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) of systems containing grape pomace was observed, following by an increase in the oxidative stability and the radical scavenging activity. Acceptability of beef sausages was not significantly ( $P > 0.05$ ) affected by the addition of grape pomace and had relatively greater scores from a sensory point of view [13].

In this context sodium nitrite and potassium nitrite have been traditionally used for inhibition of *Clostridium botulinum* and also as an agent to stabilize the color of meat products; however, usage of these additives at high levels could lead to toxicity and cancer originating from the formation of nitrosamines. Nowadays, application of natural preservatives in order to reduce the nitrite content in meat products is increasing. Moreover, the residual nitrite level declined both during the storage of sausage and after the addition of DRGP. So the use of DRGP in combination with nitrite for sausages was more effective in keeping the quality and safety of the refrigerated consumer products as indicated by the lower nitrite levels, microbial count and similar composition as compared to the samples treated with nitrite and without nitrite [14].

Recent study in Italy was dedicated to evaluation of the sensory and physical properties of meat and fish derivatives containing grape pomace powders [15]. Then was searched the effects of grape seed flour on the physical-chemical properties, microbiological and sensory properties of Turkish dry fermented sausage, sucuk. After the sausages produced with beef, beef fat, sheep tail fat and spices, they were ripened for 14 d. Then they were vacuum-packaged and stored for 80 d at 4°C. It was concluded that grape seed flour has a potential application as an additive in dry fermented sausages[16].

Meanwhile studied fat replacement by vegetal fibres to improve the quality of sausages. Based on the need to find alternatives for the use of meat from non-castrated male pigs that contains high levels of androstenone and skatole, the production of meat products (raw and Frankfurt sausages) with reduced fat content was proposed, as these compounds are lipophilic [17]. Research analyzed dry-fermented pork sausages, from Cinta Senese local breed, were manufactured replacing sodium nitrite (NIT) with two mixtures of natural antioxidants consisting of: i) grape seed extract and olive pomace hydroxytyrosol (GSE); ii) chestnut extract and olive pomace hydroxytyrosol (CHE) [18].

### **Conclusion**

Currently in South Kazakhstan one of the biggest wine industry it is recently opened Chateau Silk Alley which specializing primarily in production of white and red wine such as: Cabernet Sauvignon, Cabernet Fran, Chardonnay, Muscat, Rkatsiteli, Taifi and etc. The capacity of the plant is 3000 tons per season, its capacity base offers a one-time supply of 3 million liters of wine material. Usually approximate quantity of by-products it is 30 % from whole amount.

Also considering that in the South Kazakhstan region there are about three primary and secondary wine-making plants operating, the following applications of grape pomace are known: 1) using grape pomace as a high-protein feed for cattle; 2) preparing grape vinegar; 3) obtaining alcohol or grape brandy; 4) preparation of nutrient media for growing yeast.

But the consumers in Kazakhstan like meat products for their characteristic sensory properties, while some prefer them for their durability and minimal storage requirements. Microbially, these are highly stable products. However, after an extended storage, another factor comes into play that ultimately causes spoilage of these products, and that is the oxidation of fats. This undesirable tendency in dry meat products is typically protected by the addition of antioxidants. Grape pomace extract can play key role as natural additive with antioxidant effect for favourable influence of phenols on human health.

It is possible to apply knowledge and obtained results in antioxidant activity of extract of grape pomace in appropriate way. One of the researched methods was use of extract from blue grapes in the manufacturing of dry sausages in Czech Republic.

In conclusion, assumptions made by many researchers allow us to propose the effectiveness of application of an extract as natural antioxidant with idea to reduce using nitrite and other additives to processed meat basically beef and horse sausage. As a result we are planning to get extract from grape pomace from local winemaking industries and apply it in development of new product with improved qualities and with less harm to the health of people.

### **References**

- 1 Murthy, KN Chidambara, Ravendra P. Singh, and Guddadarangavvanahally K. Jayaprakasha. "Antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts." (2002).
- 2 Özkan, Gülcan, et al. "Antibacterial activities and total phenolic contents of grape pomace extracts." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84.14 (2004): 1807-1811.
- 3 Ruberto, Giuseppe, et al. "Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars." *Food Chemistry* 100.1 (2007): 203-210.
- 4 Drosou, Christina, et al. "A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts." *Industrial Crops and Products* 75 (2015): 141-149.
- 5 Chamorro, Susana, et al. "Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment." *Food Chemistry* 133.2 (2012): 308-314.
- 6 C Mantell, M Rodriguez, EM de la Ossa. "Semi-batch extraction of anthocyanins from red grape pomace in packed beds: experimental results and process modelling" *Chemical Engineering Science*, Volume 57, Issue 18, (2002): 3831-3838

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

7Goula, Athanasia M., Konstantinos Thymiatis, and Kyriakos Kaderides. "Valorization of grape pomace: drying behavior and ultrasound extraction of phenolics." *Food and Bioproducts Processing* 100 (2016): 132-144.

8Tsali, Alexandra, and Athanasia M. Goula. "Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract." *Powder Technology* 340 (2018): 194-207.

9Tolun, Aysu, Nevzat Artik, and Zeynep Altintas. "Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract." *Food chemistry* 302 (2020): 125347.

10 Saláková, Alena, et al. "The use of extract from blue grapes in the manufacturing of dry sausages." *Maso Internat* 1 (2012): 39-43.

11 El-Zainy, A. R., et al. "Polyphenols grape seeds extract as antioxidant and antimicrobial in beef sausage." *International Journal of Current Science* 19.2 (2016): 112-121.

12 José A. Fernández-López, Vicente Fernández-Lledó, José M. Angosto "New insights into red plant pigments: more than just natural colorants". *RSC Advances Issue* 41(2020)

13 Riazi, Fatemeh, et al. "Oxidation phenomena and color properties of grape pomace on nitrite-reduced meat emulsion systems." *Meat science* 121 (2016): 350-358.

14 Riazi, Fatemeh, et al. "Effect of dry red grape pomace as a nitrite substitute on the microbiological and physicochemical properties and residual nitrite of dry-cured sausage." *Nutrition and Food Sciences Research* 3.3 (2016): 37-44.

15 Kurt, Şükrü. "The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (sucuk) during ripening and refrigerated storage." *Korean journal for food science of animal resources* 36.3 (2016): 300.

16 Mainente, Federica, et al. "Evaluation of the sensory and physical properties of meat and fish derivatives containing grape pomace powders." *International Journal of Food Science & Technology* 54.4 (2019): 952-958.

17 Egea, Macarena, et al. "Fat Replacement by Vegetal Fibres to Improve the Quality of Sausages Elaborated with Non-Castrated Male Pork." *Animals* 10.10 (2020): 1872.

18 Pini, Francesco, et al. "Characterization of the microbial community composition in Italian Cinta Senese sausages dry-fermented with natural extracts as alternatives to sodium nitrite." *Food Microbiology* 89 (2020): 103417.

UDC 604.2

## MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE AND ITS FUNCTIONAL IMPLICATIONS IN COAL-CONTAMINATED SITES

Yeszhanova G.A., Rassulbekkyzy Kh., Kuanyshbek P.S., Akimbekov N. S.  
*al-Farabi Kazakh National University, al-Farabi ave. 71, Almaty, Kazakhstan*  
*e-mail: gauhar\_eszhanova@mail.ru*

**Abstract.** Coal is one of the most abundant and cheapest fossil fuels in the world, but its traditional combustion leads to environmental pollution. In this regard, the problem of finding new biotechnological methods of coal processing is relevant. The microbial community plays a central role in regulating coal-contaminated sites. The main aim of this article is to provide a brief overview of the coal microbiology and its importance in coal processing. In this review, we highlighted the coal microbial community structure and functional diversity with emphasis on the current advances of plant growth-promoting bacteria (PGPB), together with coal-derived humic substances (HS), demonstrating their potential benefits. The number of studies reporting the combined application of PGPB and HS is surprisingly small. Therefore, this area is an open niche for research.



**Key words:** *microbial community, low-rank coal, plant growth-promoting bacteria, humic substances, bacterial inoculants.*

### **Introduction**

The coal and coal extracts fuel much of the global trade, contributing to energy production, infrastructure development, and chemical handling/processing of materials. The production and use of coal have a multiple impact on the surrounding land and atmosphere. In consequence of the production activities of the Fuel and Energy Complex, annual atmospheric emissions from coal combustion are about 90 million tons of sulfur oxides and 30 million tons of nitrogen oxides. A serious problem is a relatively high proportion of CO<sub>2</sub> generated by coal combustion compared to other fuels [1]. But coal continues to be a significant source of energy in the world because of being one of the most abundant and cheapest fossil fuel energy sources.

In this regard, improving the quality of coal, processing it using environmentally friendly and efficient technologies is very relevant. A promising direction in improving the energy and environmental characteristics of fossil coals and coal waste is a biotechnological method of its processing. The advantage of biotechnological methods of coal processing is that the processes take place at moderate temperatures and atmospheric pressure, low energy consumption and no negative impact on the environment. To date, the main direction of bioconversion of different coals is optimization of their environmental characteristics for energy technological use by means of biosolubilization, biodesulfurization, biomineralization and biogasification [2]. Another direction of lignite processing is the deriving of HS for further employment in industry and agriculture. All of these processes conducted by microorganisms. But coal microbial communities have not been well examined, despite their importance in formation and processing of coal and coal-contaminated sites. The study of microbial populations in coal with pronounced enzymatic activity may open up new prospects for coal utilization.

The purpose of the article is to provide a brief overview of the microbial community structure and functional diversity of coal and its current applications in coal beneficiation.

Nowadays various microorganisms including bacteria (e.g., *Bacillus sp.*, *Proteobacteria*, *Streptomyces badius*, *Streptomyces setoni*, *A. ferrooxidans* and *L. ferrooxidans*), and fungi (e.g., *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Poria placent*, *Piptoporus betulinus*, *Coprinus sclerotigenis*, *Candida sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus sp.* and *Trichoderma atroviride*) are known to be present in coal mines. In the works of Tauson and Fakoussa there is a mention of bacteria and fungi found in brown coal. Mainly fungi with pronounced enzymatic activity were isolated from brown coal, such as *Phanerochaete chrisosporium*, *Phlebia radiata*, *Trametes versicolor*, *Bjercandera adusta* and *Nematoloma frovardii*, *Trichoderma atroviride*. These fungi have enzymes that decompose mainly the lignin found in brown coals [3]. It was suggested that microorganisms use HS from the surface.

Investigation of soil microbial community of coal mine regions are also very important. The reason of that the soil microorganisms and enzymes are suitable indicators for soil quality monitoring. And only a few bacteria have been reported to live in the soil of coal mines. Of the classifiable phylotypes, the genera *Acidibacter*, *Acidothermus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*, *Candidatus Udaeobacter*, *Candidatus Xiphinematobacter*, *Conexibacter* and *Sphingomonas* were relatively abundant across soils. It is also important to note that coal-bearing sediments are major reservoirs of organic matter potentially accessible to methanogenic subsurface microbial communities. Analysis of 16S rRNA gene sequences showed the presence of methanogenic *Archaea*, predominantly belonging to the orders *Methanosarcinales* and *Methanomicrobiales*, capable of acetoclastic or hydrogenotrophic methanogenesis. Furthermore, identified fermenting, sulfate-, nitrate-, and metal-reducing, or acetogenic bacteria clustering within the phyla *Proteobacteria*, complemented by members of the classes *Actinobacteria*, and *Clostridia* [4].

In accordance with the provided information we can conclude that the most of the coal bacteria composed of Gram-negative. The low number of Gram-positive bacteria in the coal may be due to a greater leakage of toxic hydrogen ions into the structure of the Gram-positive cell walls.

From the context given here, it is clear that coal mines can be an important reservoir of useful microorganisms. Therefore, the study of microorganisms contributes to the development of new methods of coal biomodification.

Climate changes, global warming and anthropogenic factors contribute to the limited crop yield. Based on these issues, there has been a call for a green revolution with a goal of enhancing crop yields by development of new technologies and safety systems. And these processes could be mediated by fertilizers based on PGPB and coal-derived HS.

PGPB are bacteria that can enhance plant growth and protect plants from disease and abiotic stresses through a wide variety of mechanisms. Several important bacterial characteristics, such as biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, and production of siderophores and phytohormones can be assessed as plant growth promotion traits. The PGPBs of roots associated with the rhizosphere could be extracellular plant growth promoting rhizobacteria (ePGPR) or intracellular plant growth promoting rhizobacteria (iPGPR) depending on the level of interaction with the host plant root cells. Most bacterial genera are ePGPR and include *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Chromobacterium*, *Caulobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter* and *Agrobacterium*. These PGPR produce various substances that enhance plant growth under abiotic stress. These include: siderophore production, phosphate solubilization, Indole-3-acetic acid production, and etc. The PGPR is dominated by members of the genus *Pseudomonas* and the genus *Bacillus* [5].

In the works A. Keith Cowan showed the relatedness of coal-degrading bacteria to known PGPB in the NCBI database. They showed that the six isolates of ten coal-degrading strains revealed  $\geq 99\%$  homology with reference PGP strains of *Bacillus*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Exiguobacterium* and *Microbacterium*, while two strains showed 94% and 91% homology with *Proteus* [6]. These works prove that PGPB can be isolated from coal slurry from discard dumps and from the rhizosphere of coal-contaminated sites. The isolation of PGPB from coal-contaminated sites is relevant because of the coal deposits are the most abundant mineral sources on Earth.

The use in the practice of agriculture of biological preparations created on the basis of nitrogen-fixing microorganisms and rhizobacteria (PGPR-bacteria), stimulating the growth of legumes and inhibiting the growth of phytopathogens, is one of the technological methods that contribute to increasing the productivity of cultivated plants and food elements. Several vehicles for PGPB delivery to crops are used including modified starch, corn starch, chitosan, alginate, polymeric inoculants, vermiculite, perlite, clay pellets, talc, activated carbon filters, local soils, kaolin, clay minerals, clay soils, poultry manure, wheat or oat bran [7]. But HS also can act like vehicle for PGPB delivery.

HS are a group of organic compounds obtained in the process of biochemical decomposition of leaves, roots, animals and microorganisms. HS make up a significant, and sometimes the predominant part of brown coals, oxidized brown coals, and hard coals. A characteristic feature of HS is their physiological activity. The mechanism of action of HS is to stimulate all biochemical processes in the plant body not only at the initial stage of seed germination and root system formation, but also further growth and development of the plant. Coals with a humic acid content above 45% are effectively used as raw materials for the production of humic fertilizers and various humates. And coals with a humic acid content of up to 20% must be oxidized [8].

The most described effect of HS is the promotion of plant root system. Also, HS affect to plant primary and secondary metabolism including changes on exudation profile, it is pertinent to consider that HS may interfere with microorganism community in the rhizosphere. Puglisi et al. [9] used DGGE analysis and showed that the influence of HS on microorganism diversity reaches the bulk soil beyond the rhizosphere zone. Plants thus select their microbial community in order to improve

their physiological processes involved in defence against pathogens, and mineralization and solubilization of nutrients.

The first report using the approach considering the application of cell suspension of the PGPB together with soluble HS at low concentration was in a sugarcane seed piece. The treatment of seed pieces by *Herbaspirillum seropedicae* strain HRC54 combined with HS gave positive effect on root and shoot. The same qualitative results were obtained with common beans, in plants co-inoculated with *Rhizobium tropici* strains 'BR322', 'BR520', and 'BR534 and *H. seropedicae* strain HRC 54 in the presence of HA. Baldatto et al. [10] demonstrated that pineapple growth was affected by *Burkholderia* strain inoculations, and further improvements were observed with combined administration with HS, leading to higher shoot and root biomass, as well as nutrient contents (N 132%, P 131%, K 80%) when compared to uninoculated plantlets. Also, Zehra Ekin has investigated the integrated and individual effects of PGPR *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* and HS on potato crop performance, quality, and nutrient uptake, which were demonstrated under field conditions. [11]. We compiled some examples of successful use of biotechnology process using PGPB and HS as inoculant applied directly on different plants. There are very few studies on the effect of HS as a carrier that contributes to the stability of PGPB in the system of the soil-rhizosphere-plant continuum, considering the potential of biological resources and inoculation technologies in modern agriculture, both in the processes of substitution of chemical resources, and in adaptation to new production technologies or even environmental intensification. The use of biological products as an alternative to chemical pesticides is very relevant and promising, as it is environmentally safe and effective. In this regard, the search for and characterization of rhizosphere bacterial strains with pronounced growth-stimulating activity is important for the development of new biotechnologies in agriculture.

### Conclusion

In this article, we examined the microbial communities of coal-associated systems isolated by traditional and modern metagenomic methods. The most common microorganisms of coal-associated systems were identified as *Pseudomonas* strains and *Bacillus* strains. Additionally, based on various sources, we described the effect of HS and PGPB on the physiological and morphological features of plants. Thus, these researches may help to overcome the complexity if HS influence on plant biology, and allow developing new technologies to increase plant growth based on humic matter.

### References

- 1 Pashkevich N.V., Martemyanova A.N. Evaluation of the economic efficiency of the development of coal energy, taking into account the economic factor // Zapiski Gornogo instituta. 2011. V. 191. P. 152–157.
- 2 Ivanov I.P., Ivanova D.I., Baranova M.P., Mikhailenko S.A. Prospects for bio-coal technologies in the energy sector // Sbornik dokladov Pervogo mezhdunarodnogo nauchno-tekhnicheskogo kongressa «Energetika v global'nom mire». - Krasnoyarsk.- 2010.- P. 391–392.
- 3 Qaiser Jamal, Iftikhar Ahmed, Shafiq Rehman, Saira Abbas, Muhammad Anees. Isolation and characterization of bacteria from coal mines of Dara Adam Khel, Pakistan // Geomicrobiology Journal,- 2016.- Vol. 33.
- 4 T. Ezeokoli, Cornelius C. Bezuidenhout, Mark S. Maboeta, Damase P. Khasa & Rasheed A. Adeleke Structural and functional differentiation of bacterial communities in post-coal mining reclamation soils of South Africa: bioindicators of soil ecosystem restoration // Scientific Reports.- 2020.- № 10:1759.
- 5 Omena Bernard Ojuederie and Olubukola Oluranti Babalola. Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review // Int. J. Environ. Res. Public Health.- 2017.-№14.-p. 1504

6 Bashan Y, de Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives // Plant Soil.-2014.- № 378.- p. 1–33.

7 Fábio Lopes Olivares. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action // Chem. Biol. Technol. Agric. -2017.- № 4.- p. 30.

8 Puglisi E, Pascasio S, Suci N, Cattani I, Fait G, Spaccini R, Crecchio C, Piccolo A, Trevisan M. Rhizosphere microbial diversity as influenced by humic substance amendments and chemical composition of rhizodeposits // Geochem Expl.- 2013.- № 129.- p. 82–94.

9 Puglisi E, Fragoulis G, Ricciuti P, Cappa F, Spaccini R, Piccolo A, Trevisan M, Crecchio C. Effects of a humic acid and its size-fractions on the bacterial community of soil rhizosphere under maize (*Zea mays* L.) // Chemosphere.- 2009.- № 77.- p. 829-837.

10 Magdi TA, Selim EM, El-Ghamry AM. Integrated effect of bio and mineral fertilizers and humic substances on growth, yield and nutrients contents of fertigated cowpea // Grown on sandy soils. J Agron.- 2011.-№10:34.– p. 9.

11 Zehra Ekin. Co-application of humic acid and bacillus strains enhances seed and oil yields by mediating nutrient acquisition of safflower (*carthamus tinctorius* L.) Plants in a semi-arid region // Applied Ecology and Environmental Research.-2020.- №18(1).- p.1883-1900.

UDC 576. 8. 095. 42

## ENVIRONMENTALLY FRIENDLY BIOLOGICAL PRODUCTS BASED ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM CYANOBACTERIA AND MICROALGAE

B.K.Zayadan<sup>1</sup>, S.K. Sandybayeva<sup>1</sup>, J. Kopecky<sup>2</sup>, A. Karabekova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*Institute of Microbiology, Academy of Science, Třeboň, Czech Republic*

*e-mail: [zbolatkhan@gmail.com](mailto:zbolatkhan@gmail.com)*

**Abstract.** Microalgae and cyanobacteria are a renewable and economical natural source of various metabolites and biologically active compounds with antiviral, antibacterial, antifungal and antitumor effects. In recent years, they have attracted a lot of attention due to their potential applications in biotechnology. In addition to their natural nature, other important aspects associated with cyanobacteria are their ease of cultivation, their rapid growth and the ability to control the production of certain biologically active compounds by changing the cultivation conditions, and they can be an environmentally friendly way to discover new biological products., This review article considers the immense competence in the use of cyanobacteria and microalgae as a potential and promising source of new compounds.

**Keywords:** *microalgae, cyanobacteria, bioactive compounds, biological products, secondary metabolites, antiviral and antitumor activity.*

### Introduction

Cyanobacteria and microalgae are of great interest in medicine, cosmetic and food industries as new and safe sources of valuable biologically active drugs [1]. They contain easily digestible proteins, lipids and polysaccharides, characterized by a unique combination of biologically active compounds, polyunsaturated fatty acids with a high content of gamma-linolenic acid, carotenoids, chlorophyll, phycocyanin, as well as macro- and microelements [2].

Microalgae can be a very interesting natural source of new compounds with biological activity that could be used as functional ingredients. In fact, some of microalgae are organisms that live in complex habitats submitted to extreme conditions (e.g. changes in salinity, temperature, nutrients, UV irradiation etc.), therefore, they must adapt rapidly to new environmental conditions to survive

by producing a great variety of secondary (biologically active) metabolites which cannot found in other organisms [3].

*New bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae*

It is known that cyanobacteria produce intracellular and extracellular metabolites, the active compounds that are mainly accumulated in the biomass and released into the nutrient medium are known as exometabolites. The edible microalgae and cyanobacteria are a good source of proteins, essential amino acids and unsaturated fatty acids (UFAs), phytosterols, carbohydrates, vitamins, and other health-promoting compounds [4].

Cyanobacteria are a source of many valuable compounds that are widely sold in the food, nutraceutical, cosmetic, and pharmaceutical industries [11]. These metabolites include proteins, amino acids, polysaccharides, lipids, macrolides, pigments, and other active components [5, 12], which can be formed as a result of primary or secondary metabolism and have various biological functions corresponding to their various chemical structures [6].

The most common pigments of microalgae are chlorophyll, alpha and beta carotene, lycopene, lutein, zeaxanthin and astaxanthin, phycocyanin, which are used in the food, nutraceutical and cosmetic industries, as well as have antioxidant and antitumor properties [7]. Astaxanthin is one of the pigments that has extensively used in the nutraceutical products due to its numerous properties especially remarkable antioxidant and anti-tumor ability [11]. Of great interest in this area are sulfated polysaccharides - fucoidans, which contain unique chemical compounds and have pronounced immunomodulatory, antiviral, anticoagulant, anti-inflammatory, antitumor and antibacterial activity [12].

In addition, phycobiliproteins are light-harvesting complex pigments that are used as dyes in food. They have demonstrated biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, antiviral, and neuroprotective [11].

It should be noted that many secondary metabolites are potent toxins, causing health problems in animals and humans when the producer organisms occur in masses in water bodies. Cyanobacterial lipopeptides include various compounds such as cytotoxic (41%), antitumor (13%), antiviral (4%), antibiotics (12%), and the remaining 18% activities include antimalarial, antimycotics, multi-drug resistance reversers, antifeedants, herbicides and immunosuppressive agents (Fig. 1) [20].

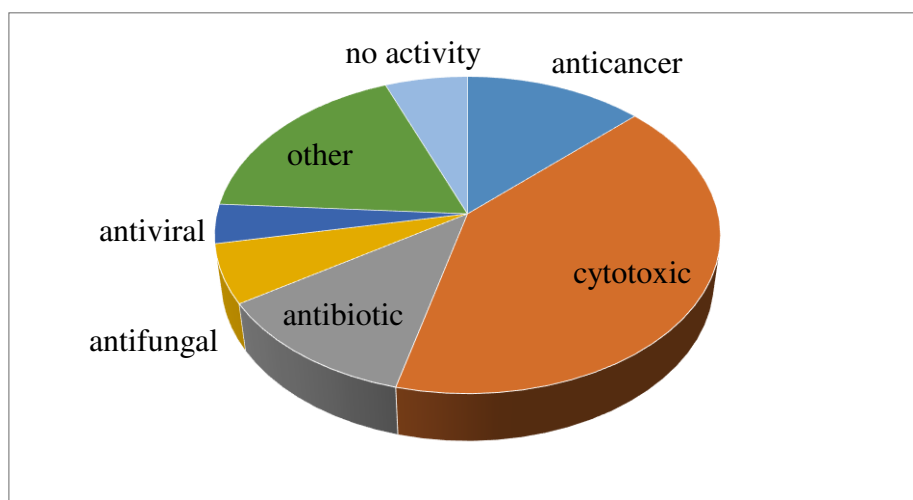


Figure: 1. Biological activities of cyanobacterial compounds [20]

Gamma linolenic acid (GLA) found rich in *S. platensis* and *Arthrospira* sp. is medically important since it is converted in the human body into arachidonic acid and then into prostaglandin E2. This compound has a lowering action on blood pressure and plays an important role in lipid

metabolism. Some of the marine cyanobacteria constitute potential sources for large-scale production of vitamins, such as vitamins B and E [19].

Some studies have shown that fucoxanthin has the following properties: reduces excess weight, reduces blood glucose levels. Of particular note is the antitumor effect of fucoxanthin on human leukemia cells, prostate and breast cancer, with low toxicity of the drug itself [8; 9].

Anti-inflammatory is one of the important biological features that have been exhibited by different metabolites from microalgae and cyanobacteria, such as *Chlorella*, *Dunaliella*, *Phaeodactylum*, etc. The chemical structures of these metabolites are classified as polysaccharides, polyunsaturated fatty acids and carotenoids [4, 7].

Edible microalgae and cyanobacteria are a good source of proteins, essential amino acids and essential fatty acids (EFA), phytosterols, carbohydrates, vitamins, and other health-promoting compounds. *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Arthrospira*, *Spirulina*, *Nostoc*, and *Aphanizomenon* are well-known species producing active metabolites as promising nutrients and pharmaceuticals (Table 1) [11, 14].

Table 1. Some bioactive substances in various strains of cyanobacteria [21].

Species of cyanobacteria	Bioactive compounds	Biological activity
<i>Lyngbya majuscula</i>	Cyclic polypeptide	Anti-HIV activity
<i>Oscillatoria raoi</i>	Acetylated sulfoglyco-lipids	Antiviral
<i>Spirulina platensis</i>	Spirulan	Antiviral
<i>Nostoc sphaericum</i>	Indolocarbazoles	Antiviral
Antiviral	Anatoxin-a	Inflammatory
<i>Synechocystis</i> sp.	Naienones A-C	Antitumoural
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Kawaguchipectin B	Antibacterial
<i>Scytonema hofmanni</i>	Cyanobactericin	Antialgal
<i>Tolypothrix tenuis</i>	Toyocamycin	Antifunga

#### *Different metabolites with anticancer and antiviral properties*

Many cyanobacteria produce compounds that are usually considered secondary metabolites, that is, compounds that are not necessary for the general metabolism or growth of the organism and are present in limited taxonomic groups [15].

Cyanobacteria have a wide range of enzymes responsible for methylation, oxidation, and other changes described by a number of authors [8], leading to a variety of natural compounds, including linear and cyclic peptides, as well as depsipeptides [9], characterized by anti-oncogenic activity.

One of the antitumor effects of cyanobacterial natural metabolites is the arrest of the cell cycle, which is the basis for cell growth and division. Some substances can disrupt the normal functioning of this complex mechanism. One of the damages is associated with suppression of microtubule dynamics. Cyclic depsipeptides - cryptophycins - are a relatively new class of microtubule inhibitors [9].

Cyanobacteria such as *Microcystis*, *Nostoc* and *Oscillatoria* produce a great variety of secondary metabolites. A number of important marine cyanobacterial molecules, including dolastatin 10, cryptophycins and curacin A, have been discovered and these were either in preclinical or clinical testing as anticancer agents [10]. *The antitumor activity of brominated fatty acids from cyanobacteria such as Anabaena have also been reported [15].*

In many research studies, *Spirulina* has been reported to have strong antiviral activities. It is established in various reports that at low dosages *Spirulina* results in inhibition in viral replication however, at higher concentrations it completely results in blocking replication [22]. The *Spirulina* extract, without suppressing host cell functions, inhibits viral protein synthesis. The antiviral activity



- 10 Tan, L.T. Filamentous tropical marine cyanobacteria: a rich source of natural products for anticancer drug discovery. *J. Appl. Phycol.* 2010, 22, 659–676.
- 11 Urtubia HO, Betanzo LB, Vásquez M (2016) Microalgae and cyanobacteria as green molecular factories: tools and perspectives. *Algae: Organisms Imminent Biotechnol.* <https://doi.org/10.5772/63006>
- 12 Singh S, Kate BN, Banerjee U (2005) Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. *Crit Rev Biotechnol* 25(3):73–95
- 13 Skulberg OM (2000) Microalgae as a source of bioactive molecules—experience from cyanophyte research. *J Appl Phycol* 12(3–5):341–348
- 14 Khan MI, Shin JH, Kim JD (2018) The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microb Cell Fact* 17(1):36
- 15 Cardozo KH, Guaratini T, Barros MP, Falcão VR, Tonon AP, Lopes NP, Campos S, Torres MA, Souza AO, Colepicolo P (2007) Metabolites from algae with economical impact. *Comp Biochem Physiol C* 146(1–2):60–78.
- 16 Simpoire, J., Zongo, F., Kabore, F., Dansou, D., Bere, A., Nikiema, J.B., Pignatelli, S., Biondi, D.M., Ruberto, G. and Musumeci, S. 2005. Nutrition rehabilitation of HIV-infected and HIV-negative undernourished children utilizing Spirulina. *Ann Nutr Metab.* 49 (6):373- 80.
- 17 Feldmann, S.C., Reynaldi, S., Stortz, C.A., Cerezo, A.S. and Damont, E.B. 1999. Antiviral properties of fucoidan fractions from *Leathesia difformis*. *Phytomedicine* 6: 335–340.
- 18 Singh, R.K., Tiwari, S.P., Rai, A.K. and Mohapatra, T.M. 2011. Cyanobacteria: an emerging source for drug discovery. *The Journal of Antibiotics* 64:401–412.
- 19 Plavsic, M., Terzic, S., Ahel, M. and van den Berg, C.M.G. (2004) Folic acid in coastal waters of the Adriatic Sea. *Mar Freshw Res* 53, 1245–1252.
- 20 Burja AM, Banaigs EB, Abou-Mansour, Burgess JG, Wright PC: Marine cyanobacteria—a prolific source of natural products. *Tetrahedron* 2001; 57: 9347–9377.
- 21 R.M.M. Abed, S. Dobretsov and K. Sudesh, 2008. Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology.* doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03918.x
- 22 Hayashi, K., Hayashi, T. and Kojima, I. 1996a. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vivo evaluation of anti-Herpes simplex virus and anti-human immunodeficiency virus activities. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 12:1463-1471.
- 23 Deng, F., Lu, J.J., Liu, H.Y., Lin, L.P., Ding, J. and Zhang, J.S. 2011. Synthesis and antitumor activity of novel salvicine analogues. *Chin Chem Lett.* 22: 25-28.

ӘОЖ 658.567.1(574)

**ҚАТТЫ ТҰРМЫСТЫҚ ҚАЛДЫҚТАРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУ САЛАСЫНДАҒЫ  
ШЕТЕЛДІК ЖӘНЕ ҚАЗАҚСТАНДЫҚ ТӘЖІРИБЕГЕ САЛЫСТЫРМАЛЫ ТАЛДАУ**

Ф.К. Батесова, А.А. Хаким

*Satbayev University, Химиялық және биологиялық технологиялар институты, Алматы қаласы, Қазақстан Республикасы*

*e-mail: Anuarovna.07@mail.ru*

**Аннотация:** Қазақстанның ең күрделі проблемаларының бірі халықтың тіршілік әрекеті процесінде туындайтын қатты тұрмыстық қалдықтарды жинау және кәдеге жарату болып отыр. Мақалада қатты тұрмыстық қалдықтарды бөлек жинау мен кәдеге жаратудың



шетелдік тәжірибесі қарастырылады. ҚТҚ-мен жұмыс істеу саласындағы шетелдік және Қазақстан тәжірибесіне салыстырмалы талдау жүргізіледі.

**Кілттік сөздер:** шетелдік тәжірибе, қатты тұрмыстық қалдықтарды кәдеге жарату, қатты тұрмыстық қалдықтармен жұмыс істеу, бөлек жинауды ұйымдастыру, қоқысты қайта өңдеу.

Соңғы жылдары байқалған экологиялық жағдайдың күрт нашарлауы қоршаған ортаны жақсартуға бағытталған шаралар кешенін әзірлеу мен енгізу қажеттілігін арттыруда. Қазақстанның басты проблемаларының бірі халықтың тіршілік әрекеті нәтижесінде пайда болатын қатты тұрмыстық қалдықтарды жинау және кәдеге жарату болып табылады.

Жыл сайын рұқсат етілмеген полигондардың саны артып келеді. 2019 жылы ғарыштық мониторинг аясында 9 мыңнан астам қоқыс үйіндісі анықталды[1,6]. Қазақстандық қоқыс үйінділерінің проблемасы сол қоқысты жағумен байланысты және полигондардың басым бөлігі (83%) экологиялық және санитарлық нормаларға сәйкес келмейді. Осы проблемалардың өзекті шешімдерінің бірі қатты тұрмыстық қалдықтармен жұмыс істеу саласында үлкен жетістіктерге жеткен шет елдер мен өңірлердің тәжірибесін зерделеу болып табылады. Сондай-ақ кешенді ғылыми зерттеулер жүргізу қажет, олардың нәтижелері осы салаға жіберілетін қаржылық ресурстарды ұтымды пайдалануға мүмкіндік береді.

ҚР Статистика комитетінің деректері бойынша Қазақстанда қалдықтардың пайда болуының негізгі көзі тау - кен өнеркәсібі болып табылады-жылына 449,8 млн.тонна. Электр, газ және бумен жабдықтау кәсіпорындары 20,5 млн. тоннаны құрайды, өңдеу өнеркәсібінің үлесіне жылдық қалдық көлемінің 31,5 млн. тоннасы келеді. Коммуналдық қалдықтар 5 млн.тоннаны құрайды[2]. 2019 жылдың қорытындылары бойынша ҚР жалпы қалдықтардың түзілу көздері диаграмма -1 көрсетілген.



Сурет 1. 2019 жылдың қорытындылары бойынша қалдықтардың түзілу көздері

2019 жылы еліміздің 3,2 мың полигонында 125 млн тонна қатты тұрмыстық қалдықтар жинақталған (1 кесте). Жыл сайын 5 млн тоннадан астам ҚТҚ қалыптасады. Коммуналдық қалдықтардың жыл сайынғы өсімі 5% - ды құрайды. ҚТҚ өңдеу үлесін 6 есеге - 2,6-дан 15% - ға дейін арттыруға қол жеткізілді. Алайда бұл өте аз. Мысалы, дамыған елдерде бұл көрсеткіш 30% - дан асады. Жалпы 2018-2019 жылдар аралығындағы ҚР түзілген қатты тұрмыстық қалдықтар көлемі бірінші кестеде салыстырмалы түрде берілген.

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Өңдеудің жоғары үлесі Маңғыстау (33%), Алматы облыстарында (23,3%) және Шымкент қаласында (22,7%), ал төмен үлесі Ақмола (3%), Шығыс Қазақстан (3,3%) облыстарында байқалады [1].

Кесте-1. 2018-2019 жылдар аралығындағы ҚР түзілген қатты тұрмыстық қалдықтар көлемі (мың.тонна).

	<b>Атаулар</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
1	Орама материалдары	37,1	82,6
2	Макулатура	211,3	227,7
3	Пластик қалдықтары	13,3	68,84
4	Электрондық және электр жабдықтарының қалдықтары	4,0	1,32
5	Ірі көлемді қалдықтар	3,8	73,7
6	Құрылыс материалдарының қалдықтары	69,0	486,1
7	Өзге де қалдықтар	294 495,3	334 511

2019 жылы қаптама материалдары қалдықтарының негізгі үлесін қағаз және картон қалдықтары құрады. Ірі габаритті қалдықтардың арасында жиһаз басым[2].

ҚТҚ - мен жұмыс істеу-бұл құқықтық, техникалық, экономикалық және экологиялық аспектілерді қамтитын күрделі процесс. Бірінші кезекте қалдықтарды кәдеге жарату процестерімен техникалық аспектілер байланысты. Германия, Швеция, Австрия, Данияда мәселені шешудің үш негізгі қағидасы бар:

1. құнды компоненттерді қайта өңдеу;
2. қалдықтарды қайта өңдеу мүмкін болмаған немесе тиімсіз болған жағдайда оларды қайталама энергетикалық ресурстар ретінде пайдалану;
3. жоғарыда аталған әдістер қолайсыз болғанда қалдықтарды полигонға көму [3].

Қалдықтармен жұмыс істеудің шетелдік тәжірибесін зерделеу кезінде мынадай жіктеме қолданылды, оған сәйкес мемлекеттер қалдықтармен жұмыс істеу деңгейі бойынша "бастаушы", "қуып жетуші" және "басып озушы" болып бөлінеді. Бұл бағалау қайта өңдеуге немесе қалдықтарды жағуға байланысты үлесіне негізделген. 0% - дан 41% - ға дейін қалдықтарды өңдейтін немесе жағатын мемлекеттер " бастаушы ", 41% - дан 80% - ға дейін "қуып жетуші", 81% - дан 100% - ға дейін "басып озушы" болып саналады. 2019 жылы Қазақстанда қалдықтарды қайта өңдеу 15 пайызды құрайды, сондықтан ҚР бірінші санатқа кірді[4].Таңдалған елдердегі қалдықтармен жұмыс жасау, бақару көрсеткіштері диаграмма-2 берілген.

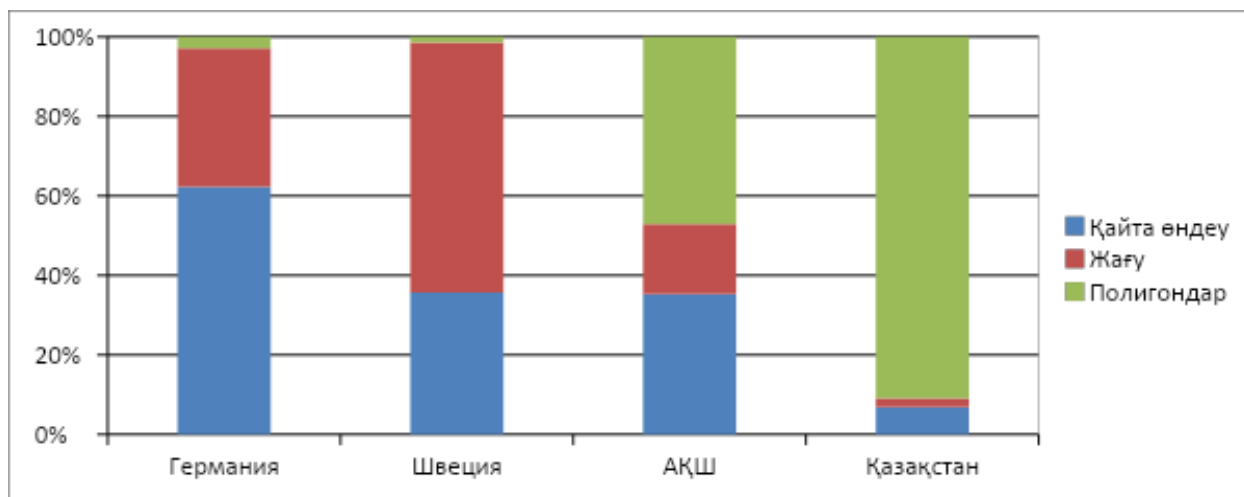
Зерттеу барысында талдау жүргізу үшін 4 мемлекет таңдалды. Бұл "басып озушы" Германия мен Швеция, АҚШ " қуып жетуші " Қазақстан " бастаушы ".

Швецияда қоқыстың 99% қайта өңделеді. Жақсы ұйымдастырылған сұрыптау жүйесінің арқасында Швеция қалдықтардың көп бөлігін энергияға айналдырады. Тұрмыстық қалдықтарды энергияға айналдыратын 32 зауыт жұмыс істейді. Швеция бүгінде осы саладағы әлемдік көшбасшы болып саналады. Қатты тұрмыстық қалдықтарды сұрыптаудың маңызды факторы-шведтер ерте жастан бастап балаларға тұрмыстық қалдықтарды бөлек жинау және қайта өңдеу маңыздылығын үйретеді. Бүгінгі таңда әр Швед үйінің жанында контейнерлер бар, олардың әрқайсысы қалдықтардың белгілі бір түріне арналған. Мысалы: шыны, қағаз, пластик, металл, тамақ қалдықтары үшін[5].

Швецияны қарастырып болып, АҚШ-қа көшеміз. Жыл сайын АҚШ-та 250 млн тоннадан астам тұрмыстық қоқыс түзіледі. Қалалық санитарлық басқарманың статистикасына сәйкес Нью-Йорктің әр тұрғынына аптасына 11,33 килограмм қалдық келеді. АҚШ қоршаған ортаны қорғау агенттігінің бағалауы бойынша, жалпы жылына 30 млн тоннадан астам пластик түзіліп,

оның басым бөлігі қайта өңделмейді. Жалпы, әр штат пен қала пластикпен ластану мәселесін өз бетінше шешеді. Федералды деңгейде 3R-reduce, reuse and recycl бағдарламасы бар.

АҚШ-тағы қайталама шикізатты 550-ден астам зауыт өңдейді, тағы мыңға жуық зауыт қайталама шикізат негізінде биоотын өндіруге мамандандырылған. АҚШ-та қалдықтарды жою бойынша көптеген жобалар бар. Ал айыппұлдар жүйесі халықты қоқысты макулатура, шыны, пластик және басқа да қалдықтарға арналған контейнерлерге, белгілі бір орындарға шығаруға ынталандырады [5].



Сурет 2. Тандалған елдердегі қалдықтарды басқару [4].

Талдау нәтижелері бойынша бірқатар маңызды тұжырымдар жасауға болады. Атап айтқанда, қатты тұрмыстық қалдықтарды бөлек жинаудың дамыған жүйесі. Әлемнің көптеген елдері мен аймақтарында қатты тұрмыстық қалдықтарды (пластик, қағаз, шиналар) қайта өңдеу арқылы алынған тауарларды сатып алуға ынталандыру жақсы ұйымдастырылған.

Әлемнің кейбір елдерінде, мысалы Швецияда, қатты тұрмыстық қалдықтарды жоюдың өзіндік әдістері бар, атап айтқанда қоқысты өртеу арқылы энергия алу. Дамыған шетелдерде ҚТҚ жинау мен қайта өңдеуді жүзеге асыруға мүмкіндік беретін қажетті инфрақұрылым құрылып жақсы жұмыс жасайды. Дамыған елдерінің тәжірибесін зерттеу барысында, қоқысты бөлек жинауды ұйымдастыру іс жүзінде баламасыз қажеттілік болып табылатынын көрсетеді. Тұрмыстық қалдықтарды бөлек жинау шетелдерде ұзақ уақыт бойы қалыптасқан жүйе.

Өкінішке орай, біздің елімізде тұрмыстық қалдықтарды бөлек жинау және қайта өңдеу жұмыстары енді басталып жатыр. Біздің елімізде тұрмыстық қалдықтарды қабылдау және оларды одан әрі өңдеуді ұйымдастыру жүйесі дамымаған. Бөлек жинауға арналған контейнерлер мемлекетіміздің көп қалаларында, елді-мекендерінде жеткіліксіз. Қайта шикізатты қабылдау пункттер нашар жарнамаланады сондай-ақ, басым бөлігі халыққа ыңғайлы жерлерге орналаспайды. Қазақстанда мемлекет те, жалпы халық та ойлануы тиіс көптеген экологиялық проблемалар шешілген жоқ. Шет елдердің тәжірибесін талдап, оған сүйене отырып, біздің елімізде ҚТҚ қайта өңдеу саласын дамытып, алдыңғы қатарлы жетістіктерді енгізуге болады.

Дегенімен, еліміз соңғы бес жылдың ішінде ҚТҚ басқаруда көптеген жетістіктерге қол жеткізді. ҚТҚ қайта өңдеу үлесі 6 есеге - 2,6-дан 15% - ға дейін артты, ҚТҚ өңдеу саласын дамыту мақсатында нормативтік құқықтық база жетілдірілді. Атап айтқанда, Экологиялық кодекске түзетулер енгізілді. Бүгінгі таңда Қазақстанда қатты тұрмыстық қалдықтарды жағу арқылы энергияға қайта өңдеуді енгізуді көздейтін "Waste-to-energy" жобасын іске асыру мүмкіндігі қарастырылуда. "Waste-to-energy" жобасы Қазақстанда алғаш рет жүзеге асырылуда. Ол Қазақстан өңірлеріндегі полигондардағы ҚТҚ морфологиялық құрамын,

физикалық-химиялық қасиеттерін және энергетикалық көрсеткіштерін зерттейді. Бұл жоба ҚТҚ жағу арқылы жұмыс істейтін электр станцияларын салу үшін технологиялық құжаттаманы және инженерлік шешімдерді дайындауды және басқа да бағыттарды көздейді.

Мемлекет жүзеге асыратын түрлі реформалардың, инновациялық өңдеу әдістерінің сәттілігі тек үкімет жұмысына байланысты емес, оларды қоғамның қолдап және біріге жұмыс жасауына байланысты.

### **Әдебиеттер**

1 Увеличение доли переработки отходов и продвижение экологических инициатив - М. Мирзагалиев рассказал о проделанной работе // Официальный информационный ресурс Премьер-Министра Республики Казахстан // URL: <https://primeminister.kz/ru/news/reviews/uvlichenie-doli-pererabotki-othodov-i-prodvizhenie-ekologicheskikh-iniciativ-m-mirzagaliyev-rasskazal-o-prodelannoy-rabote-1053421>

2 ҚР статистика комитетінің сайтына алынған мәліметтер. URL: <https://stat.go.kz/>

3 Исследовательская группа DAMU RG. Отчет по результатам маркетингового исследования. Внедрение комплексной системы управления твердо-бытовыми отходами в Республике Казахстан, 2018.

4 What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050, Всемирный банк-2018 год.

5 Арина Раксина. От отходов на улицах до глубокой сортировки: Мировой опыт борьбы с мусором. // URL: [https://tass.ru/spec/mirovoi\\_musor](https://tass.ru/spec/mirovoi_musor)

6 Батесова Ф.К., Хаким А.А., Анализ данных по образованию и вторичному использованию отходов в Казахстане // «Сатпаевские Чтения-2020» 2-том. Алматы, 2020 год.

УДК 613.2:577.118

## **ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА НАСЕЛЕНИЯ ИНДУСТРИАЛЬНО РАЗВИТОГО РЕГИОНА**

Г.А. Батырова, Г.А. Умарова, Ж.Ш. Тлегенова, Х.И. Кудобаева,  
П.Ж. Айтмағанбет

*Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, Актобе, Республика  
Казахстан,  
e-mail: [batgul77@mail.ru](mailto:batgul77@mail.ru)*

**Аннотация.** Цель исследования: провести сравнительный анализ содержания биоэлементов в волосах взрослого населения с референсными значениями для выявления дисбалансов содержания элементов.

**Материалы и методы:** Аналитические исследования элементного состава волос проводились методами масс спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП).

**Результаты:** По результатам оценки распространённости отклонений содержания химических элементов в волосах населения, проживающего в Актюбинской области, наблюдается выраженный дефицит селена, кобальта, марганца, йода и избыток лития, магния, железа, натрия, калия, фосфора.

**Заключение:** Недостаточное или избыточное поступление многих жизненно важных микроэлементов в организм из окружающей среды может существенно повышать риск развития экологозависимых заболеваний.

**Ключевые слова:** микроэлементы, дисбаланс биоэлементов, селен

За последние два десятилетия появились обширные знания о необходимости и токсичности микроэлементов для человека, при этом отмечается, что биологический мониторинг концентраций микроэлементов в различных средах имеет большое значение [1].

Биоэлементный фон среды проживания отражается в биоэлементном статусе организма человека. Негативные факторы антропогенного воздействия, включая избыточное поступление тяжелых металлов и дефицит жизненно важных химических элементов, неблагоприятные климатогеографические условия проживания большей части населения Западного региона Казахстана могут способствовать ухудшению здоровья на индивидуальном и популяционном уровнях [2].

В настоящее время большую проблему представляет рост эколого-зависимой и алиментарно-зависимой патологии, поражающей значительную часть населения современных государств. Элементный статус взрослого населения в большей степени отражает длительное воздействие неблагоприятных факторов среды обитания и профессиональной деятельности. По мнению Скального А.В., одним из адекватных методов эколого-гигиенической и токсикологической диагностики состояния минерального обмена как на индивидуальном, так и на популяционном уровнях, является многоэлементный анализ волос [3].

По данным исследований, выявлены техногенно-напряженные районы, обусловленные деятельностью промышленных предприятий, в которых обнаружены корреляционные связи между заболеваемостью и содержанием Br, Cl, K, Na, Cu и Zn в волосах. Проведенный анализ показал, что возникновение заболеваний тех или иных систем человека находится в прямой зависимости от состояния окружающей среды, уровня и характера ее загрязнения. Макро- и микроэлементный состав волос человека можно считать индикатором экологического неблагополучия территорий и показателем здоровья населения [4].

Цель исследования: провести сравнительный анализ содержания биоэлементов в волосах взрослого населения с референсными значениями для выявления дисбалансов содержания элементов.

#### **Материалы и методы**

С целью оценки биоэлементного статуса проводился макро- и микроэлементный анализ волос методом случайной выборки. В исследование включены 329 взрослых 18-60 лет, постоянно проживающие на территории Актюбинской области, не имеющие в анамнезе хронических декомпенсированных заболеваний внутренних органов.

Работа одобрена локальным этическим комитетом Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова (заседание №5 от 13.05.2020). Исследовательская работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации и последующих поправок. Оценивалось содержание двадцати пяти химических элементов: Al, As, B, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Li, Mn, Mg, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sn, V, Hg, Zn. Образцы волос были получены путем состригания чистыми ножницами из нержавеющей стали с 3-5 участков затылочной части головы в количестве не менее 0,1 г. Для элементного анализа волос использовали проксимальные части прядей длиной 3-4 см. Пробы помещаются в конверты с идентификационными записями.

Аналитические исследования элементного состава волос проводились методами масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП). Анализ образцов проводился на атомно-эмиссионном спектрометре Optima 2000 DV (Perkin Elmer, США) и квадрупольном масс-спектрометре Nexion 300D (Perkin Elmer, США). Определение содержания химических элементов в волосах с помощью методов ИСП-АЭС и ИСП-МС позволяет комплексно оценивать воздействие эколого-гигиенических и физиологических факторов на организм у людей.

Анализ волос проведен в лаборатории ООО «Микронутриенты» (г. Москва), сертифицированной лаборатории по стандартам ISO Europe, сертифицированной по Системе

менеджмента качества, соответствующей требованиям международного стандарта ISO 9001:2008.

Для оценки статистической значимости различий категориальных данных анализировали с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Для выявления дисбалансов содержания элементов сравнивали содержание биоэлементов в волосах с референсными значениями (Скальный А.В., 2003, 2004; Iyengar V., Woittiez J., 1988) [5, 6, 7].

### Результаты и обсуждение

Одним из важных параметров, характеризующих состояние элементного гомеостаза отдельного региона, является частота отклонений содержания химических элементов в волосах обследованного контингента от границ нормы [8]. С целью выявления дисбалансов содержания элементов мы провели сравнительный анализ содержания биоэлементов в волосах с референсными значениями (Скальный А.В., 2003, 2004; Iyengar V., Woittiez J., 1988) [5, 6, 7].

Значительные отклонения от референсных значений, наблюдались по содержанию кобальта (Co), лития (Li), железа (Fe), магния (Mg), марганца (Mn), калия (K), натрия (Na), йода (I), фосфора (P), селена (Se). Анализ частот распространения дефицита и избытка содержания макро- и микроэлементов в волосах обследованных детей показал, что наблюдается выраженный дефицит селена у 97%, кобальта у 80%, марганца у 35%, йода 32% обследованных. Кроме того, для 80% обследованного взрослого населения характерен избыток лития, для 34% магния, для 37% железа, для 59% натрия, для 68% калия, для 45% фосфора (Рис. 1).

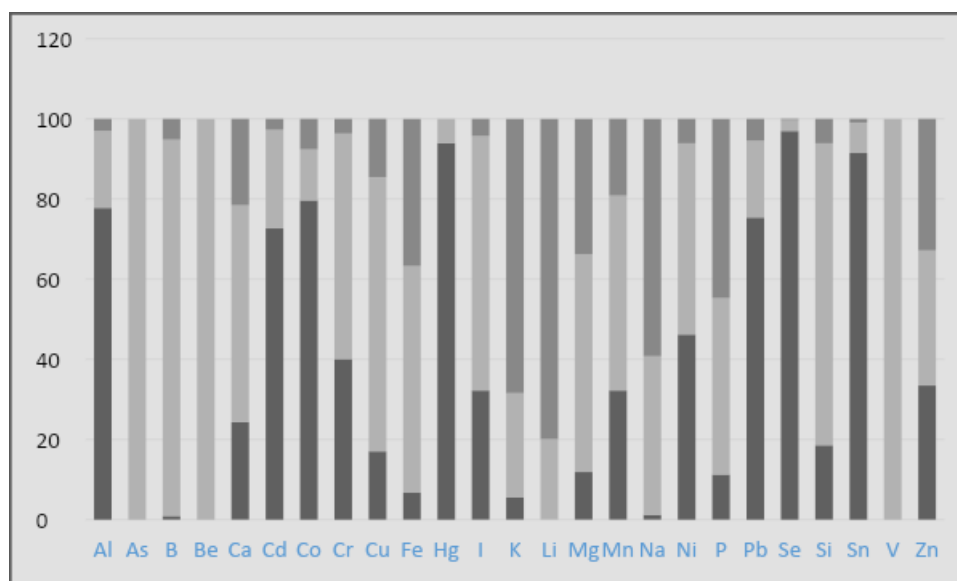


Рисунок 1. Распространённость отклонений содержания химических элементов в волосах взрослого населения Актыубинской области по сравнению с референтными значениями концентраций химических элементов

### Обсуждение

Актыубинская область представляет собой крупный промышленный регион. Основные индустриальные отрасли – горнодобывающая и химическая промышленность, чёрная металлургия. В недрах области залегают запасы полезных ископаемых: газа, нефти, нефтегазоконденсата, никеле-кобальтовых руд, фосфорита, титана, цинка, меди, алюминия, калийных солей. Неблагоприятная экологическая ситуация в регионе связана с деятельностью хромдобывающих и перерабатывающих, нефтегазодобывающих предприятий. В области

сформировалась устойчивая природно-техногенная борно-хромовая геохимическая провинция [9, 10].

Полученные результаты частично согласуются с данными А.В. Скального, Е.В. Сальниковой и др. (2012), в Оренбургской области также наблюдается неблагоприятная ситуация по дисбалансу микроэлементов связанная с избыточным содержанием калия, натрия, магния, железа и недостаточным содержанием селена и цинка [11].

Сниженное содержание эссенциальных микроэлементов в организме жителей вероятно, обусловлено эколого-геохимическими особенностями региона проживания. К примеру, к недостатку селена может привести влияние антагонистов этого элемента — свинца и серы [12]. Как известно, серосодержащие вещества и тяжелые металлы в большом количестве входят в состав выбросов металлургических, нефтегазоперерабатывающих и добывающих производств Актюбинской области. В свою очередь, недостаток эссенциальных элементов снижает биодоступность других эссенциальных биоэлементов. В частности, при дефиците селена, кобальта организм может испытывать эндогенный дефицит йода даже при его достаточном поступлении с продуктами питания [13].

Выявленные дисбалансы элементов быть результатом техногенного загрязнения окружающей среды, недостатка или избытка в среде элементов, формирования техногенных биогеохимических зон. Изменения концентраций биоэлементов в биологических субстратах человека могут оказывать общетоксический эффект и нарушать естественный обмен макро- и микроэлементов. Дефицит и избыток поступления многих жизненно важных микроэлементов в организм из окружающей среды может существенно повышать риск развития экологозависимых заболеваний.

Работа выполнена в рамках научного проекта с грантовым финансированием Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан «Разработка онлайн-атласа «Элементный статус населения Западного региона Республики Казахстан»» (ИРН AP08855535).

#### *Литература*

1. Nordberg M., Nordberg G.F. Trace element research-historical and future aspects // J Trace Elem Med Biol. – 2016. – Vol. 38. – P.46-52.
2. Батырова Г.А., Кудабаяева Х.И., Базаргалиев Е.Ш., Веркаускиене Р. // Особенности биоэлементного статуса детей Атырауской области Астана медициналық журналы. - 2018. - № 3 (97). - С.72-77.
3. Скальный А. В. Оценка и коррекция элементного статуса населения—перспективное направление отечественного здравоохранения и экологического мониторинга //Микроэлементы в медицине. – 2018. – Т. 19. – №. 1. – С. 5-13.
4. Данилова, Е. А., Осинская, Н. С., Хусниддинова, С. Х., Ахмедов, Я. А. Элементный состав волос— индикатор природно-техногенной обстановки ташкентской области //Микроэлементы в медицине. - 2020. – Т. 21. – №. 3. – С. 24-32.
5. Скальный А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО Центр биотической медицины) // Микроэлементы в медицине. – 2003. – Т. 4, №1. – С. 55-56.
6. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М.: Мир, 2004. – 216 с.
7. Iyengar V., Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values // Clinical chemistry. – 1988. – Vol. 34, №3. – P. 474-481.
8. Джаугашева К.К. Особенности микронутриентной обеспеченности и элементного статуса детей в городах Западного Казахстана: влияние эколого-физиологических факторов. – Актобе, 2009. – 155 с.

9. Об области: справочная информация об экономическом положении Актыубинской области. – URL: <http://aktobe.gov.kz> (дата обращения 20.10.2020).

10. Мамырбаев А.А., Карашова Г.И., Каримова И.Т. и др. Медико-социальные аспекты формирования здоровья населения урбанизированного города // Гигиена труда и медицинская экология. – 2010. – №2 (27). – С. 42-49.

11. Скальный, А. В., Сальникова, Е. В., Кудрявцева, Е. А., Кустова, А. С. Аккумуляция тяжелых металлов и микроэлементов в волосах населения Оренбургской области // Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 13. – №. 4. – С. 42-45.

12. Элементный статус детей как отражение эколого-геохимических особенностей территории Оренбургского региона/ Бурцева Т.И., Нотова С.В., Фролова О.О., Бурлуцкая О.И., Скальная М.Г. // Микроэлементы в медицине. -2009. –Т. 10. № 3-4.С. 49-54.

13. Кубасов Р. В., Горбачев А. Л., Кубасова Е. Д. Роль биоэлементов в увеличении объема щитовидной железы у детей, проживающих в приморском регионе // Экология человека. – 2007. – №. 6. С.9-14

ЭОЖ 604.2

## МИКРОБАЛДЫР ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ АУЫР МЕТАЛДАРДЫ СОРБЦИЯЛАУЫ

Бауенова М.Ө., Садвақасова А.К., Кирбаева Д.К., Тұрғамбай С.,  
Өндіріс Б., Мұстапаева Ж.Ө.

*Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті*  
e-mail: [Meruyert.Bauyenova@kaznu.kz](mailto:Meruyert.Bauyenova@kaznu.kz)

**Абстракт.** Жұмыста *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Ankistrodesmus* sp., *Chlamydomonas reinhardtii* В-4, *Scenedesmus quadricauda* В-1 микробалдырларының Cu, Cd, Zn, Pb иондарын сіңіру қабілеті зерттелінді. Зерттелінген микробалдыр дақылдарынан мыс үшін жоғары биоаккумулятор - *Chlorella vulgaris* ВВ-2, кадмий үшін - *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 және *Chlamydomonas reinhardtii* В-4, қорғасын үшін - *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 және *Chlorella vulgaris* ВВ-2 екені анықталды. Мырыш барлық зерттелінген микробалдыр дақылдарымен аккумуляцияланады. Ортадағы ауыр металдар  $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+}$  бірізділігінде микробалдырлармен селективті сіңірілетіні анықталды.

**Кілт сөздер:** микробалдыр, ауыр металдар, сорбция

Соңғы жылдары экологтар қоршаған ортаның ластану деңгейін бағалап және ластану көздерін анықтай отырып, табиғи ортаға түскен заттардың «табиғатын» анықтауға, олардың өзгеруіне және тірі ағзалармен байланысына үлкен мән беріп отыр. Осындай зерттеулер үшін ыңғайлы объект ретінде, көптеген элементтерді жоғары концентрацияда жинақтауға және оларды токсинді емес формаға айналдыруға қабілетті микробалдырлар қызмет атқарады [1]. Экожүйелерде микробалдырлар металдарды «топтық тип» бойынша аккумуляциялайды, яғни, металдардың белгілі бір топтарын жоғары жинақтауға қабілетті. Сонымен қатар, балдырлар мен жоғары сатыдағы су өсімдіктерінің белгілі түрлері бес-жеті металдан тұратын топтарды ғана жинақтай алуы мүмкін. Мысалы, *Stramialis* көп жағдайда Ti, Mn, Fe, V сияқты металдарды концентрлеуге қабілетті [2]. Сонымен бірге, кейбір балдырлар токсинді металдарды да сіңіру бойынша «іріктемелі типке» жатқызылады. Балдырлардың элементтерді іріктеп сіңіруі және ағзаның толеранттылығы генетикалық қасиеттеріне байланысты екені белгілі. Мысалы, кейбір балдырлар мырышты сіңіруге ғана қабілетті. Оған *Fucus* туысының түрлері жатқызылады. Норвегия жағалауында, антропогендік ластануға ұшыраған аймақтарда *Fucus evanescens* клеткаларынан 2207 мкг/г мырыш иондары табылған. Балдырлардың ауыр металдарды іріктеп жинақтауы, олардың теңіз жағалауы экожүйесінің абиотикалық және



биотикалық компоненттерінің арасындағы микроэлементтердің, сонымен қатар ауыр металдардың таралуында маңызды биогеохимиялық рөл атқаратынын көрсетеді. Кейбір балдырлардың осы қасиеті жергілікті ластанған су экожүйелерін тазалау кезінде оларды биофилтрлер мен консорциумдар құрамында пайдалануға мүмкіндік береді [3].

Ауыр металдардың қоршаған ортаға түсуінің факторларының шығу тегі табиғи (тау жынысының немесе минералды заттардың желге мүжілуі, эрозиялық үрдістер, жанартау әрекеті) және техногенді (пайдалы қазбаларды өндіру және қайта өңдеу, отын жағу, транспорттың әсері, ауыл шаруашылығы) болуы мүмкін. Аэрозоль түрінде қоршаған ортаға түсетін техногенді заттардың бір бөлігі, ұзақ қашықтыққа таралады және ғаламдық ластануды тудырады. Келесі бөлігі ағынды емес суларға келіп түседі, сол себепті ауыр металдар жинақталады және екіншілік ластағыштардың көзіне айналады. Сол себепті, жұмысымыздың мақсаты, микробалдырлардың ластанған су объектілерінен ауыр металл иондарын сіңіру мүмкіндігін зерттеу.

### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Зерттеу объектілері: *Chlorella vulgaris* BB-2, *Ankistrodesmus* sp. BI-1., *Chlamydomonas reinhardtii* B-4, *Scenedesmus quadricauda* B-1 микробалдырлары.

Тәжірибе зертханалық жағдайда бөлініп алынған микробалдырлардың монокультураларына жүргізіледі. Ол үшін жарық қарқындылығы 4000 люксте, ал температура интервалы 24-26°C температурада зерттелді [4]. Егу материалының бастапқы саны  $0,5 \times 10^6$  кл/мл болды. Микробалдырларды өсіру зертханалық люминостат жағдайында жарықтандырумен жүргізілді.

Жасанды ластанған су дайындау үшін мыс сульфаты ( $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ), қорғасын сульфаты ( $\text{PbSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ), мырыш сульфаты ( $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ), кадмий хлориді ( $\text{CdCl}_2 \times 5\text{H}_2\text{O}$ ) сияқты ауыр металдарының су ерітінділері пайдаланылды. Сәйкесінше 0,1; 0,03; 0,1 және 0,001 мг/л концентрациядағы ауыр металл ерітінділері дистилденген суда дайындалды.

Микробалдыр дақылдарындағы ауыр металдар құрғақ күлдену әдісінен кейін атомды-адсорбционды спектроскопия «МГА-915МД» («Атомприбор», Россия) спектрометрі көмегімен анықталынады [5]. Деректерді статистикалық өңдеу Microsoft Excel программасының көмегімен жүргізіледі.

### **Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау**

Металдың токсинділігі және биоқолжетімділігі реакциялық қабілеттілігіне және ерігіштігіне, яғни элементтің химиялық формасына байланысты. Әрбір элементтің формасы оның тотығу дәрежесіне және физикалық жағдайына байланысты (металл бос жағдайда немесе кешендердің, бейорганикалық және органикалық бөлшектердің, минералдардың, конкреция және т.б. құрамына қосылады). Табиғи суларда ауыр металдар концентрациясының артуы көп жағдайда басқа ластағыштардың түрлерімен де байланысты, мысалы, қышқылданумен. Қышқылды қалдықтардың түсуі рН көрсеткішінің төмендеуіне және сорбцияланған металдың бос жағдайдағы минералды және органикалық заттарға айналуына жағдай жасайды. Металдар экожүйеге түскен уақытта бір мезгілде бірнеше жолдармен таралуы мүмкін.

Дақылдық ортаға 1 мг/л концентрациядағы мыс ионын салған уақытта микробалдарларды дақылдау үрдісін сараптау барысында, *Chlorella vulgaris* BB-2 және *Ankistrodesmus* sp. BI-1 жасушаларында 6 сағаттан соң мыстың мөлшерінің жылдам өскенін көрсетті және 6 тәулік бойы біртіндеп көбейе бастады. Яғни 6 тәулікте *Chlorella vulgaris* BB-2 жасушаларының Cu-ды жинақтауы 92 % құрады, ал *Ankistrodesmus* sp. BI-1 – 89 % болды. *Chlamydomonas reinhardtii* B-4, *Scenedesmus quadricauda* B-1 жасушаларында 24 сағаттан соң мысты 49 % концентрацияда жинақтау байқалғанымен, 6 тәуліктен кейін мыс ионын жинақтау көрсеткіші, сәйкесінше 30 %, 45 %-ға төмендегені байқалды.

Дақылды өсіру үрдісінде дақылдық ортадағы Zn ионының азаю динамикасын зерттеу кезінде, микробалдыр клеткаларымен металдарды максималды сіңіру, оларды ортаға салған

соң бастапқы 24 сағатта жүзеге асады. 1,0 мг/л Zn концентрациясын енгізгеннен кейін 6 сағаттан соң ортадағы Zn ионының 75 % дейін төмендегені байқалды. 24 сағаттан соң ортадан 85 % мырыш ионы сіңірілді, ал 6 тәулік дақылданған соң орташа есеппен 90 %-ға дейін сіңірілгені анықталды.

Барлық зерттелінген микробалдыр дақылдары мырышқа қатысты жоғары кумулятивті белсенділік көрсетті, біріншіден фотосинтездеуші ағзалардың қалыпты өсуіне, оның ішінде электрондар транспортына және көптеген маңызды ферменттердің қалыпты қызметіне оның қажетті болуымен байланысты, сонымен қатар оның басқа зерттелінетін металл иондарымен салыстырғанда токсинділігінің төмендігіне байланысты болуы мүмкін. Сонымен бірге, Zn ионын клетканың зат алмасуына жеткілікті мөлшерде алу үшін, олардың байланысына және тасымалдануына қатысатын ақуыздардың бірнеше типтерін пайдаланады. Балдырлар және өсімдіктер жасушаларында CDF және ZIP туысының ақуыздары мырышты тасымалдай алатыны дәлелденген. Металл транспортына қатысатын ақуыздар тасымалданатын иондарға өте немесе аз болса да ұқсастығы болады. Транспортты ақуыздардың синтезіне қатысатын гендердің кең спектрі, қоршаған ортадағы АМ жоғары концентрацияларына балдырлардың және өсімдіктердің бейімделуіне ықпал ететін реттеуші механизмдердің қызметі үшін мүмкіндік туғызады.

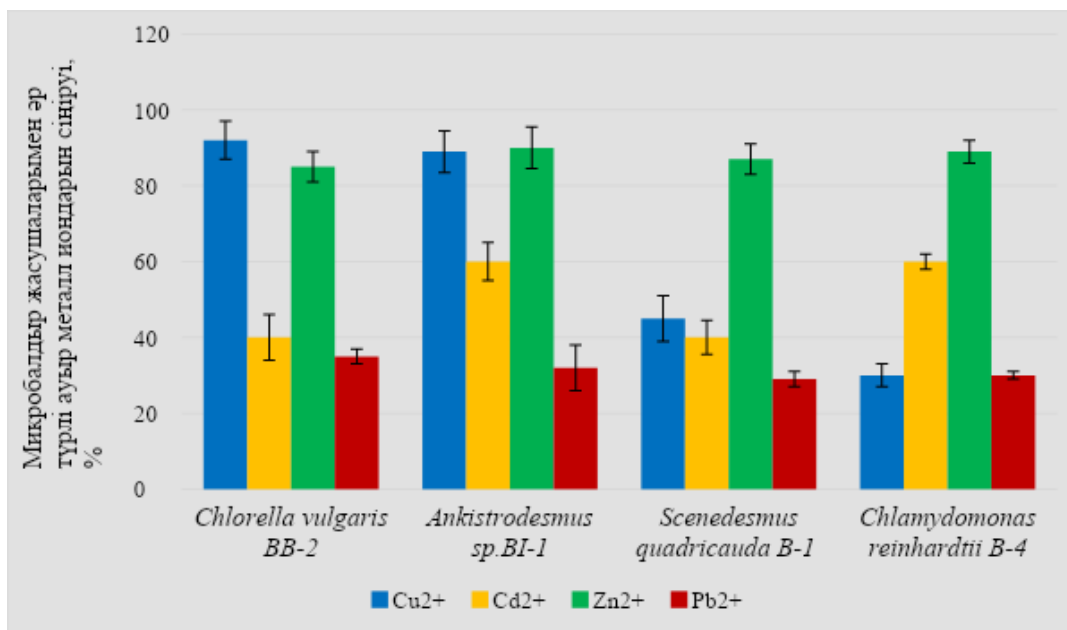
Металдарды сіңіру жылдамдығы балдырлардың жасушаларының зақымдану дәрежесіне қатысты әр түрлі физиологиялық жағдайына байланысты болуы мүмкін. Жасушада жүзеге асатын, олармен металдардың сіңіруіне метаболитикалық үрдістердің әсері жайлы қарсы ойлар да бар: бір авторлар бұл әсерді жоққа шығарады және сіңіруді пассивті диффузиямен түсіндіреді, ал басқалары – жасушалардың металдарды белсенді сіңіруі – олардың цитоплазмамен байланысы дейді. Соңғы мәліметтер бойынша, металдарды, оның ішінде мырыш ионын да микробалдыр жасушаларымен сіңірудің механизмі пассивті екені, сонымен қатар жасуша қабықшасында металдарды сіңіру арқылы жүзеге асатыны жайлы мәліметтер бар.  $K^+$  иондары үшін жасуша мембранасының өткізгіштігіне  $Zn^{++}$  әсері жайлы мәліметтер, әсер ету тиімділігінің концентрленген тәуелділігі  $Zn^{++}$  балдыр жасушаларына өте төмен концентрацияда түсуінің метаболизмге байланысты деп болжауына мүмкіндік береді [6].

Кадмийдің 0,01 мг/л концентрациясын ортаға енгізу кезіндегі микробалдыр жасушаларының кадмий ионын жинақтау динамикасын зерттеу барысында, *Ankistrodesmus* sp. BI-1 және *Chlamydomonas reinhardtii* B-4 дақылдары дақылдаудың бірінші 6 сағатында кадмийді белсенді жинақтай бастайтынын көрсетті. Бастапқы 6 сағатта сұйықтықтағы кадмий концентрациясы 32 %-ға дейін төмендейді, ал олардың жасушадағы жинақтау пайызы 58 % жетті. Дақылдаудың 6 тәулігінде осы жасушалармен металдарды жинақтау орташа есеппен 60 %-ды құрады.

*Chlorella vulgaris* BB-2 және *Scenedesmus quadricauda* B-1 жасушалары бастапқы сағаттарда кадмийді аз мөлшерде ғана сіңірді. Кадмий ионы бар ортада дақылдауды жалғастыру кезінде бұл иондардың жасушаішілік саны біраз өсті. *Chlorella vulgaris* BB-2 және *Scenedesmus quadricauda* B-1 жасушаларымен кадмийді жинақтау орташа есеппен 40 %-ды құрады.

0,3 мг/л концентрациядағы қорғасын ионы бар қоректік ортада микробалдырларды дақылдау кезінде қорғасынды жинақтау сараптамасы, басқа АМ салыстырғанда аталмыш металды жасушалар едәуір аз жинақтайтынын көрсетті. Қорғасынды жинақтау бойынша *Ankistrodesmus* sp. BI-1 жасушалары 32 % көрсетті, бұл көрсеткіш *Chlorella vulgaris* BB-2 – 35 % болды, *Scenedesmus quadricauda* B-1 – 29 % және *Chlamydomonas reinhardtii* B-4 – 30 % жинақтайды.

Осылайша, зерттелінген микробалдырлардың ішінде АМ белсенді биоаккумуляторлары *Chlorella vulgaris* BB-2 және *Ankistrodesmus* sp. BI-1 болды. Жасушалардың ортадан АМ сіңіруі келесі қатарды құрады:  $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+}$  (сурет 1).



Сурет 1. Микробалдыр жасушаларымен ауыр металл иондарын жинақтау

Бұл көрсеткіштер, әр түрлі микробалдыр жасушаларының ауыр металдарды аккумуляциялау дәрежесі және жылдамдығы бойынша әр түрлі екенін көрсетеді [6].

#### Әдебиеттер

- 1 Черных Н.А., Овчаренко М.М. Тяжелые металлы и радионуклиды в биогеоценозах. - М.: Агроконсалт, 2002. - 198 с.
- 2 Веницианов Е. В. Экологический мониторинг: шаг за шагом // – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2003. – 252 с.
- 3 Мурадов С.В. Воздействие тяжелых металлов на водоросли макрофиты Авачинской губы // Фундаментальные исследования. - 2014. - № 9. - С. 1998–2002.
- 4 Сиренко Л.А., Сакевич А.И. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наукова думка, 1975. - 248 с.
- 5 Ефремов А.Г. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства <http://www.alppp.ru> (10.03.1992).
- 6 Баринава С.С. Методические аспекты анализа биологического разнообразия водорослей // Водоросли-индикаторы в оценке качества окружающей среды. – М.: ВНИИ природы, 2000. – С. 4–60.

УДК: 577.21:633.24

#### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПАЛИНДРОМНОТАРГЕТИРОВАННОЙ ПЦР ДЛЯ ГЕНОМНОГО ФИНГЕРПРИНТИНГА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *ROSEAE*

Р.Т. Бектаев<sup>1</sup>, Ж.С. Ахметкаримова<sup>1</sup>, Р.Н. Календарь<sup>2</sup>

<sup>1</sup>РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Казахстан, г. Нур-Султан

<sup>2</sup>ЧУ «National Laboratory Astana», Казахстан, г. Нур-Султан

e-mail: [bektayev@biocenter.kz](mailto:bektayev@biocenter.kz)

**Аннотация.** На основе принципа ПЦР разработан метод, позволяющий проводить идентификацию биологических видов в популяционных исследованиях различного рода. Показана высокая чувствительность и специфичность метода, обеспечиваемые оригинальным профилем термоциклирования и использованием в нем комбинации из, особым образом

сконструированных, “блуждающих” праймеров и праймеров, специфичных к нуклеотидной последовательности. Продемонстрирована возможность использования разработанного метода для идентификации биологических видов.

**Ключевые слова:** биоразнообразия, ПЦР, ДНК фингерпринтинг

### Введение

Геномный фингерпринтинг для различных целей идентификации уже стал рутинной процедурой в сферах мониторинга биоразнообразия, контроля производства, потребления и транспортировки продуктов растительного происхождения и самих растений. Новые молекулярно-генетические методы для сравнения целых геномов или идентификации определенных генетических маркеров постоянно развиваются и конкурируют друг с другом по своим свойствам информативности, затратности и т.д. В настоящей работе, нами описана новая техника – палиндромнотаргетированная ПЦР (ПТ-ПЦР) и представлена как новый метод фингерпринтинга, являющийся конкурентноспособным по отношению к другим аналогичным методам и имеющим хорошие перспективы для более широкого использования в силу своей значительной информативности, низкой стоимости и небольших требований к эмпирической оптимизации под конкретный биологический образец.

### Материалы и методы

Представители *P. pratense* были собраны из различных географических регионов [1]. Листья для получения ДНК были собраны у 28-дневных растений, выращенных в теплице. Подробный протокол выделения ДНК депонирован на protocols.io (DOI: 10.17504/protocols.io.mghc3t6). Образцы ДНК были растворены в 1×TE буфере (10 mM Trizma pH 7.5, 1 mM EDTA) и прошли проверку качества с использованием спектрофотометра Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) и гель-электрофореза.

Дизайн “блуждающих” праймеров (ПТ-праймеров) соответствовал следующим критериям: наличие шестичленной палиндромной нуклеотидной последовательности на 3'-конце тела праймера, последующей (т.е. по направлению к 5'-концу) десятичленной, полностью вырожденной, нуклеотидной последовательности и адаптерной области с невариабельной последовательностью длиной в 19 нуклеотидов (см. таблицу).  $T_m$  вычислялась только для шестнадцатичленной нуклеотидной последовательности “ядра” ПТ праймера (совокупность палиндромной и вырожденной последовательности), поскольку только она отжигается на образце ДНК. Расчет  $T_m$  был произведен по термодинамической модели ближайших соседей. Термодинамические вычисления и моделирование вторичных структур проводились с использованием ПО FastPCR [2-4].

Нуклеотидные последовательности генов *VERNALIZATION1* (*VRN1*) от представителей семейства *Poaceae* были загружены из GenBank и использовались для подбора праймеров, специфичных к последовательности (СПП). Нуклеотидные последовательности отдельных экзонов генов *VRN1* извлекались и использовались для построения множественного выравнивания посредством MULTALIN (<https://prabi.ibcp.fr/html/site/web/home>) [5]. Высококонсервативные области этих экзонов во всех доступных генах *Poaceae VRN1* применялись в качестве мишеней для СПП. Были разработаны два сайт-специфичных праймера: один для первоначально проводимой ПЦР и второй, вложенный, отжигающийся с другой стороны относительно 3'-конца первого праймера, для последующей ПЦР. Дизайн наборов СПП был осуществлен таким образом, чтобы они были нацелены на концы выбранных экзонов и одну консервативную область в промоторе гена *VRN1*. Для подбора СПП-ов мы руководствовались следующими критериями: длина каждого СПП должна соответствовать диапазону от 25 до 35 нуклеотидов и иметь содержание GC в своем составе в районе 40-60%,  $T_m \geq 65^\circ\text{C}$ .

ПЦР проводилась в два этапа. Для первого этапа были приготовлены реакционные смеси объемом 30  $\mu\text{l}$  с содержанием ДНК-образца в количестве 30 нг, 1×Long Amp Taq

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

реакционного буфера и 1 U LongAmp Taq ДНК-полимеразы (NEB), 2mM Mg<sup>2+</sup>, 200 μM каждого дНТФ, 0.2 μM одного СПП (внешнего) и 0.5 μM одного ПТ праймера. По завершении первого этапа, полученные реакционные смеси разбавляли 1×TE-буфером в пропорции 1/6 и добавляли в виде субстрата в состав реакционных смесей, предназначенных для второго этапа. Для проведения реакции второго этапа были приготовлены реакционные смеси (25 μл), состоящие из 1×LongAmp Taq реакционного буфера, 1 U LongAmp Taq ДНК-полимеразы (NEB), 0.2 μM СПП(вложенного) и 0.2 μл универсального праймера.

Таблица 1. Праймеры для ПТ-ПЦР. Обозначения: T<sub>m</sub>, температура плавления; CG% (процентаж С и G); LC (%) – Лингвистическая Сложность, рассчитанная для 6-нуклеотидных сайтов рестрикции

ИД	Нуклеотидная последовательность (5'-3')	Сайт рестрикции/ информация	T <sub>m</sub> (°C)	CG (%)	LC (%)
<i>Универсальный праймер (для второго этапа ПЦР)</i>					
5600	GTTGCGGCAGGTCCTCACC	—	69.1	68.1	89
<i>ПТ праймеры (для первого этапа ПЦР)</i>					
5601	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGACGTC	AatII	49.3	56.3	100
5602	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnAACGTT	AcII	46.1	43.8	100
5603	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnTTCGAA	AsuII	45.6	43.8	100
5604	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnTGGCCA	BalI	51.0	56.3	100
5605	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGGATCC	BamHI	48.3	56.3	100
5606	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnTGATCA	BclI	44.7	43.8	100
5326	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnAGATCT	BglII	43.7	43.8	100
5607	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnATCGAT	ClaI	44.8	43.8	89
5608	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGAATTC	EcoRI	43.7	43.8	100
5609	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGATATC	EcoRV	42.3	43.8	89
5610	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnAAGCTT	HindIII	45.5	43.8	100
5611	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGTTAAC	HpaI	43.6	43.8	100
5612	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGGTACC	KpnI	48.2	56.3	100
5613	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnCCATGG	NcoI	49.1	56.3	100
5614	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGCTAGC	NheI	49.3	56.3	89
5615	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnCACGTG	PmaCI	50.2	56.3	100

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

5616	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnCTGCAG	PstI	49.7	56.3	100
5617	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnCAGCTG	PvuII	49.7	56.3	100
5618	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGAGCTC	SacI	48.8	56.3	100
5619	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGTCGAC	SalI	49.3	56.3	100
5620	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnAGTACT	ScaI	43.7	43.8	100
5621	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnGCATGC	SphI	50.9	56.3	89
5622	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnAGGCCT	StuI	50.1	56.3	100
5327	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnTCTAGA	XbaI	43.1	43.8	100
5623	GTTGCGGCAGGTCCTCACCnnnnnnnn nnnCTCGAG	XhoI	48.6	56.3	100
<i>СПП для гена VRN1 представителей семейства Poaceae</i>					
5315	CTSAAGCGGATCGAGAACAAGATC AACC	Прямой, экзон1	61.5	50.0	78
5410	CTCATCATCTTCTCCACCAAGGGA AAGCTCTACGAGTTC	Прямой, экзон1	66.2	48.7	81
5299	GTTCTCGATCCGCTTSAGCTGCACC TT	Обратный, экзон1	64.5	55.6	89
5411	GCACGGAGATCTCGTGCGCCTTCT TGAG	Обратный, экзон1	66.8	60.7	89
5412	CTCGTAGAGCTTTCCTTGGTGGA GAAGATGATGAG	Обратный, экзон1	65.3	50.0	80
5317	ARCGGTAYGAGCGYТАCTCYTATG CAGA	Прямой, экзон2	62.3	50.0	87
5413	GARCGGTATGAGCGCTAYTCYTAT GCAGA	Прямой, экзон2	62.4	50.0	83
5300	TARGAGTARCGCTCRTACCGYTCA AGAA	Обратный, экзон2	60.5	46.4	83
5301	GTARCGCTCRTACCGYTCAAGAAT TTTGTCATA	Обратный, экзон2	62.8	42.6	88
5416	CAGCCGTTGATGTGGCTCACCATC CA	Обратный, экзон8	64.7	57.7	93
5445	CTTGTTTTGGGCCGTCTCGCTTC	Обратный, промотор	61.2	56.5	73
5446	CGTCTCGCTTCTCCCGTTTGGGCAT	Обратный, промотор	64.9	60.0	81

ПЦР-продукты разделялись методом электрофореза в 1.2% агарозном геле (Wide Range, SERVA Electrophoresis GmbH) и 0.5×TBE электрофоретическом буфере в течение 3-ех часов при 70-90 В. Гели были окрашены EtBr и засняты при помощи системы визуализации FLA-5100 (Fuji Photo Film GmbH) с разрешением 50 мкм.

Результаты и обсуждения. Результаты, полученные в настоящей работе, позволяют нам предложить метод ПТ-ПЦР как метод для идентификации биологических видов. К примеру, для семейства *Poaceae*, как мишень, можно использовать ген *VRN1*. В этом отношении, множественное выравнивание экзона 1 гена *VRN1* показывает области различной консервативности, подходящие для различения всех биологических видов семейства *Poaceae*. Ген *VRN1* имеет потенциал универсального маркера для проведения фингерпринтинга злаковых культур. Выравнивание нуклеотидных последовательностей ДНК экзонов гена *VRN1* различных представителей *Poaceae* выявило как консервативные, так и переменные области. Праймеры для экзона 1 были протестированы на всех представителях *Phleum pratense*, имеющихся в распоряжении у авторов, и, в результате, давали амплификацию желаемого ПЦР продукта. Секвенирование ДНК выявило существование полиморфизмов нуклеотидных последовательностей в промоторе и интроне 1 (см. рисунок).

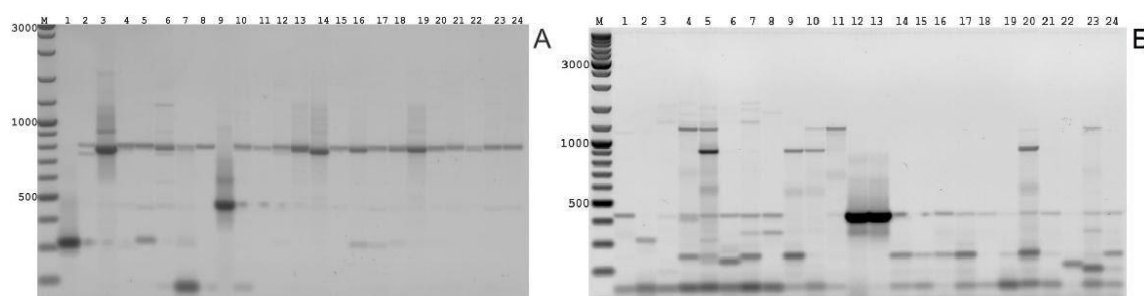


Рисунок 1. Анализ полиморфизмов среди представителей *P. pratense* в интроне 1 (а) и промоторе (б) гена *VRN1* у продуктов, полученных после проведения второго этапа ПЦР, посредством гель-электрофореза. Лунки содержат следующие перечисленные образцы: 1 - 251595 (бывшая Югославия); 2 - 319079 (Испания); 3 - Кew 6091 (Италия); 4 - 381926 (Франция); 5 - Кew 51998 (Англия); 6 - Кew 6116 (Италия); 7 - 3199 (Россия); 8 - 3264 (Ирландия); 9 - 325461 (Россия); 10 - 210426 (Греция); 11 - Grindstad; 12 - RCAT41183 (Венгрия); 13 - A7E0001 (Болгария); 14 - BORN21/1 (Финляндия); 15 - 3267 (Румыния); 16 - 319080 (Испания); 17 - 539037 (Россия); 18 - BOR0307 (Финляндия); 19 - BOR112 (Финляндия); 20 - NGB7596 (Норвегия); 21 - NGB1332 (Швеция); 22 - NGB4140 (Исландия); 23 - 14G2400152 (Словакия); 24 - 325461 (Россия)

### Заключение

Анализ молекулярной организации гена, включающий в себя длины промотора и интрона 1, а также число вариаций копий, позволил получить точное описание полиморфизмов, что, таким образом, делает ПТ-ПЦР пригодным для фингерпринтинга всех биологических видов *Poaceae*.

### Литература

- 1 Jokela V., Trevaskis B., Seppanen M. M. Genetic variation in the flowering and yield formation of timothy (*Phleum pratense* L.) accessions after different photoperiod and vernalization treatments // *Frontiers in Plant Science*. - 2015. – Vol.6. – №465. – С.1-15.
- 2 Kalendar R., Muterko A., Shamekova M., Zhambakin K. *In Silico* PCR Tools for a Fast Primer, Probe, and Advanced Searching // *PCR. Methods in Molecular Biology*. - New York. -2017. – С.1-31.
- 3 Kalendar R., Tselykh T. V., Khassenov B., Ramanculov, E. M. Introduction on Using the FastPCR Software and the Related Java Web Tools for PCR and Oligonucleotide Assembly and Analysis // *PCR. Methods in Molecular Biology*. - New York. -2017. – С.33-64.

4 Kalendar R., Khassenov B., Ramanculov E., Samuilova, O., Ivanov, K. I. FastPCR: An *in silico* tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis // Genomics. – 2017. – Vol.109. – №3-4. – С.312-319.

5 Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering // Nucleic Acids Research. -1988. – Vol.16. – №22. – С.10881-10890.

УДК 546.3

## **СВИНЕЦ И ЦИНК В ПОЧВАХ ГОРОДА УСТЬ-КАМЕНОГОРСКА**

Л.С. Болуспаева, Е.Ж. Битманов, А.Б. Абжалелов

*Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, г. Нур-Султан, Казахстан*

*e-mail: [boluspaeva82@mail.ru](mailto:boluspaeva82@mail.ru)*

**Аннотация.** Определено валовое содержание свинца и цинка в почвах города Усть-Каменогорска. Выявлены территории города, имеющие максимальное накопление изучаемых тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** *тяжелые металлы, загрязнение почвы.*

### **Актуальность работы**

Усть-Каменогорск – крупнейший промышленный город на северо-востоке Республики Казахстан. Располагаясь в центре Восточно-Казахстанской техногенной провинции, площадь города является эпицентром Прииртышского наиболее крупного очага техногенного загрязнения токсичными веществами. В регионе функционируют предприятия цветной и черной металлургии, атомно-промышленного комплекса и тепло-энергетики. По данным РГП «Казгидромет» на декабрь 2020 года, уровень загрязнения атмосферного воздуха в г. Усть-Каменогорск характеризуется как высокий [1].

### **Материалы и методы**

Отбор проб почв, их транспортировка, хранение и подготовка к анализу осуществлялись согласно ГОСТам 5681-84, 28168-89, 4979-49 [2,3,4] и методическим рекомендациям [5,6].

Территория города условно разделена нами на четыре зоны: северная (промышленная), северо-восточная (промышленная), центральная (селитебная) и восточный пригород. Первая зона-северная промышленная приурочена к промплощадкам ТОО «Казцинк», АО «Ульбинский металлургический завод», АО «AES Усть-Каменогорский ТЭЦ» и территориям, непосредственно прилегающим к ним. Вторая зона-северо-восточная промышленная, где располагаются АО «Усть-Каменогорский титано-магниевого комбинат», Согринская ТЭЦ. Третья - селитебная зона, сюда входит значительная часть жилых массивов областного центра: многоэтажная застройка. Четвертая зона - восточная пригородная, сюда входят: Левый берег, Аблакетка и жилые массивы, примыкающие к Усть-Каменогорской ГЭС.

Фоновые пробы были взяты в 80 км. от города в противоположную сторону от розы ветров. Валовое содержание тяжелых металлов определено методом атомной абсорбции.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Почвенный покров территории представлен разными родами и видами черноземных почв: черноземы обыкновенные, лугово-черноземные, черноземы южные и пойменные луговые черноземные (в пределах долин рек Ульбы и Иртыша, а также в виде узких лент вдоль их притоков).

Описываемые почвы характеризуются нейтральной или слабощелочной реакцией – pH от 6.7-8.0, слабо- и среднегумусированные (1.3-5.0%), механический состав от легкосуглинистых до тяжелосуглинистых, физическая глина от 16 % до 49 %. Емкость катионного обмена колеблется в пределах 9.7 - 36 мг-экв/100 г.п.



International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Средняя концентрация цинка и свинца в почвах г. Усть-Каменогорска превышает кларк в земной – 3.7 раза. Превышение кларка в почве составило для цинка – в 6.1 раза, свинца – в 5.9 раза (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная оценка содержания свинца в почвах г. Усть-Каменогорска, мг/кг

Элемент	Среднее содержание	Фон	Кларк в земной коре, [7]	Кларк в почве, [8]	ПДК, [9]	Число проб (в %), выше ПДК
Zn	306.8	67.4	83	50	23	94.8
Pb	59.5	17.8	16	10	32	76.2

Установлено, что средняя концентрация свинца в почвах города Усть-Каменогорска превышает фон в 3.3 раза, цинка в 4.5 раза.

Установлено, что в 76 % исследованных пробах почв валовое содержание свинца превышает ПДК в 1.1-5.9 раза; в 95 % пробах по цинку в 1.1-16 раза.

Региональный кларк в почве ВКО [10] был превышен средней концентрацией цинка - в 2 раза, свинца - в 2.7 раза.

Уровень концентрации исследуемых элементов в почвах различных зон г.Усть-Каменогорска неодинаков (табл. 2).

Таблица 2. Содержание тяжелых металлов в почвах различных зон г.Усть-Каменогорска, мг/кг

Элемент	Северная промышленная	Северо-восточная промышленная	Центральная селитебная	Восточный пригород
Zn	$\frac{852.6 \pm 62.1}{78.6-3821.4}$	$\frac{143.3 \pm 10.4}{51.2-698.6}$	$\frac{159.6 \pm 6.2}{38.6-521.5}$	$\frac{108.4 \pm 5.0}{13.4-320.6}$
Pb	$\frac{95.5 \pm 2.2}{38.3-189.5}$	$\frac{63.0 \pm 1.8}{29.6-121.3}$	$\frac{43.6 \pm 1.0}{17.6-96.7}$	$\frac{38.4 \pm 1.3}{9.3-83.8}$

*Примечание:* в числителе – средняя арифметическая и ее ошибка; в знаменателе – предел колебаний.

Наибольшие концентрации валового содержания исследуемых металлов обнаружены в почвах северной промзоны. Предприятиями этой зоны выбрасывается до 70 % от общего количества загрязняющих веществ в год.

В этой зоне 100 % исследованных проб почв характеризуются превышающими не только фоновое значение, но и ПДК исследуемых тяжелых металлов.

В районе воздействия АО УК «Титано-магниевый комбинат» и ТОО «Согринская ТЭЦ» также наблюдается высокая концентрация исследуемых элементов. Так, среднее содержание цинка в почвах северо-восточной промзоны превышает таковое в почвах восточного пригорода в 1.3 раза, свинца – 1.6 раза.

Наименьшие концентрации исследуемых металлов характерны для почв восточного пригорода, что объясняется отдаленностью от промышленных предприятий и противоположным расположением от господствующих ветров (северо-западное направление).

В целом по мере удаления от источника загрязнения наблюдается закономерное уменьшение количества тяжелых металлов. Так, содержание Zn в почвах на расстоянии от 500 м до 7 км от УК МК ТОО «Казцинк» уменьшилось в 6.1 раза, Pb – в 1.7 раза.

### **Выводы**

1. Средняя валовая концентрация свинца и цинка в почвах г. Усть-Каменогорска выше их кларка в земной и кларка в почве, а также превышает фон. В почвах города от 76,2 % до 95 % проб, содержащих исследуемые металлы, превышают их ПДК.
2. Наибольшие концентрации валового содержания свинца и цинка обнаружены в почвах северной промзоны.
3. Наиболее выраженные концентрации тяжелых металлов в почвенном покрове определяются направлением господствующих ветров и расстоянием от промышленных центров.

### **Литература**

- 1 Информационный бюллетень о состоянии окружающей среды Республики Казахстан, Выпуск № 12, декабрь 2020, Министерство экологии, геологии и природных ресурсов, РГП «Казгидромет».
- 2 ГОСТ 5681-84. Полевые исследования почвы. Порядок и способ определения работ. Основные требования к результатам. – Москва: Изд-во стандартов, 1984.
- 3 ГОСТ 28168-89. Почвы. Отбор проб. – Москва: Изд-во стандартов, 1989.
- 4 ГОСТ 4979-49. Почвы. Отбор, хранение и транспортировка проб. – Москва: Изд-во стандартов, 1980.
- 5 Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв при контроле загрязнения окружающей среды металлами. – Москва: Метеоиздат, 1982. – 109 с.
- 6 Методические рекомендации по геохимической оценке загрязнения территории городов химическими элементами. – Москва, 1982
- 7 Виноградов А.П. Геохимия редких и рассеянных химических элементов в почвах. – Москва: Изд-во АН СССР, 1957. – 277 с.
- 8 Виноградов А.П. Среднее содержание химических элементов в главных типах изверженных горных пород земной коры // Геохимия. – 1962. - №7. – С.555-571.
- 9 Kloke A. Richwerte'80. Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturböden // Mitteilunger VDLUFA. – 1980. – Н. 1-3. – S. 9-11.
- 10 Федоров Г.В. и др. Отчет по теме: "Проведение комплексного геоэкологического исследования территории и здоровья населения города Усть-Каменогорска". Том 1. Усть-Каменогорск: ТОО "Экосервис С", 2004.

УДК. 595.763.7

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ КОКЦИНЕЛЛИДОВ (*COCCINELLIDAE*) В БИОЦЕНОЗАХ ЮЖНОЙ КАШКАДАРЬИ В РАЗЛИЧНЫХ ЛАНДШАФТАХ**

Бўриева Х.П., Мирзаева Г.С.

*АН РУз института Зоологии*

*e-mail: [arabova\\_nodira@mail.ru](mailto:arabova_nodira@mail.ru)*

**Аннотация.** В данной статье идентифицировано 22 вида кокциnellидов в биоценозах Кашкадарьинской области. Установлено что среди изученных территориях распространение кокциnellидов в ландшафтах гор и предгорий, холмов, тугайных и агроценозных ландшафтов.

**Ключевые слова:** кокциnellид, вид, ландшафт, гора, пустыня, агроценоз, холм.

### Введение

Многие виды кокцинеллидов известны как энтомофаги культурных и дикорастущих растений. Следовательно, большая часть работы по биологии и экологии этой группы сосредоточена на изучение динамики популяции и оценке полезности отдельных видов [1, 2, 3].

Обследованные территории Кашкадарьинской области были разделены на природные и антропогенные ландшафты. Распространение кокцинеллидов в биотопах связано с их специализацией на пищевых растениях, адаптацией к образу жизни, географической и экологической группой [2, 3].

Территория Кашкадарьинской области образует комплекс разного растительного покрова на разных типах почв. Такие станции являются благоприятной средой для развития и размножения кокцинеллидов. Агрорландшафт включает хлопковые поля, занятые на этих территориях сельскохозяйственными культурами. Исходя из этого, мы проанализировали видовой состав кокцинеллидов, распространенных в этих регионах на 4 ландшафтных участках (таблица 1).

Таблица 1. Распространенность кокцинеллидов биоценозов Южной Кашкадарьи в ландшафтах

№	Название вида	Гора и предгорье	Пустыня и полу-пустыня	Тукай	Агроценоз
1	<i>Chilocorus kuwanae</i> (Silvestri, 1909)	+	+	+	+
2	<i>Coccidula rufa</i> (Herbst, 1783)	-	+	-	+
3	<i>Stethorus pusillus</i> (Herbst, 1797)	-	+	-	+
4	<i>Adania Variegata</i>	-	+	-	+
5	<i>Anisosticta novemdecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	+	-	+	+
6	<i>Hippodamia tredecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)-2	+	+	+	-
7	<i>Bulaea lichatschovi</i> (Hummel, 1827)	-	+	-	+
8	<i>Adalia bipunctata</i> (Linnaeus, 1758)	+	-	-	+
9	<i>Adalia decimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	+
10	<i>Coccinella septempunctata</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
11	<i>Coccinella undecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	+	+
12	<i>Coccinula quatuordecimpustulata</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	-	+
13	<i>Coccinula sinuatomarginata</i> (Faldermann, 1837)	-	+	-	+
14	<i>Propylaea quatuordecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	-	+
15	<i>Oenopia oncina</i> (Olivier, 1808)	-	+	+	-
16	<i>Hippodamia tredecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

17	<i>Anisosticta novemdecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	+	+
18	<i>Subcoccinella quatuoripunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	-	+
19	<i>Coccinella reitteri</i> (Weise, 1891)	-	+	-	+
20	<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas, 1773)	+	+	+	+
21	<i>Coccinella sedakovii</i> (Mulsant, 1850)	+	+	-	+
22	<i>Calvia duodecimmaculata</i> (Gebler, 1832)	+	+	+	+

Как видно из таблицы, 40,9% выявленных кокцинеллиды, т. е. 9 видов, встречаются в горных и предгорных ландшафтах, 19 видов (86,36%), тугаи, 11 видов (50%) и 20 видов (90,9%) в агроландшафтах (рисунок 1).

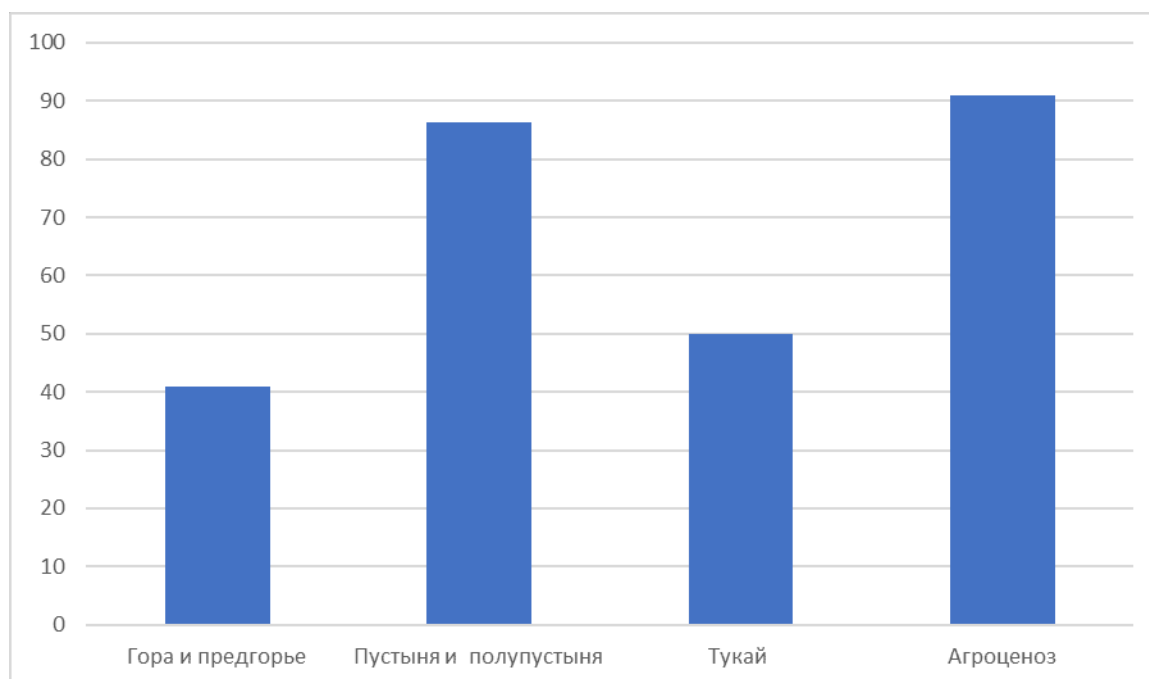


Рисунок 1. Распространение по ландшафтам видов кокцинеллидов

Кокцинеллиды по видовому составу чаще встречаются в сельскохозяйственных агробиоценозах Кашкадарьинской области, но очень редки (7-8 видов) в хлопковых и озимых агробиоценозах. Это связано с тем, что в последнее время для защиты сельскохозяйственных культур от вредителей необходимо бороться с помощью сильнодействующих химикатов.

### *Литература*

1 Собирова Д.У., Сабчак М.Н. Инсектоакарицидная характеристика некоторых препаратов для вредных и полезных членистоногих хлопкового агробиоценоза // Вредители хлопчатника и их энтомофаги в Узбекистане. -Ташкент. – 1986. - С. 146-151.

2 Хамраев А.Ш. Энтомокомплексы хлопкового агробиоценоза (фитофаги, энтомофаги), формирования, функционирование и усовершенствование биологических основ их регулирования. Автореф. дисс., д.б.н.. -Ташкент. -1992. - 48с.

3 Хамраев А.Ш. Насриддинов К. Биологическая защита растений. -Ташкент: Издательство Сокровище народа.-2003. -287 стр.

УДК 537.531:57.08

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA* AR-1 ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ВОДОЁМОВ ПРИАРАЛЬЯ.

Верушкина О.А.<sup>1</sup>, Тонких А.К.<sup>1</sup>, Баймурзаев Е.Н.<sup>1</sup>, Кодиров С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии АН РУз, Узбекистан, г.Ташкент

<sup>2</sup>Национальный Университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Узбекистан, г.Ташкент  
e-mail: olga.verushkina@bk.ru

**Аннотация.** В данной публикации собраны обобщенные сведения о впервые выделенном штамме микроводоросли из водоемов Приаралья. Показан химический состав, морфолого-культуральные особенности. Также особенности действия биомассы на нейродегенеративное состояние и противоопухолевое действие на примере солидной опухоли Эрлиха.

**Ключевые слова:** *Dunaliella salina*, *dunaliella*, гиперсолёные водоёмы Аральского моря, солидная опухоль Эрлиха, нейродегенеративное состояние, токсичность.

Известная микроводоросль *Dunaliella salina*, обитающая в гиперсолёных водоёмах, имеющая биотехнологическую ценность как продуцент каротиноидов (в 1000 раз больше, чем в моркови), липидов и глицерина, используется в промышленных масштабах во многих странах. Согласно данным 50-90г.г., в бассейне Аральского моря *D. salina* не обитала [1,13].

В связи с высыханием Аральского моря в оставшемся Западном участке и многочисленных озёрах Приаралья концентрация солей поднялась выше 100 г/л. Очевидно, с этим связан тот факт, что в настоящее время в этих водоёмах наблюдается появление *Dunaliella salina*.

*Dunaliella salina* – растительная составляющая планктона, один из самых богатых источников микроэлементов (в том числе селена), бета-каротина (1:15), важным для поддержания нормальной функции зрения. Кроме того, содержит кантаксантин и фикотин, которые в комплексе с другими биологическими активными компонентами дуналиеллы усиливают противоопухолевый иммунитет, препятствующий возникновению и развитию опухолей. *Dunaliella salina* применяется как профилактическое, оздоровительное и лечебное средство.

По данным FAO UN, дефицит витамина А (β-каротина) испытывает 53% детей и 38,4% взрослых в Узбекистане. Однако, в многочисленных гиперсолёных водоёмах Приаралья (солей больше 100 г/л) появилась: микроводоросль *Dunaliella salina*, которая является самым богатым природным источником каротинов. Эту микроводоросль промышленно культивируют во многих странах из-за β-каротиноидов (до 12% биомассы), липидов (до 10% биомассы) и глицерина (до 30% биомассы). Перспективно также культивировать дуналиеллу в качестве корма для микрорачков артемий, которые, в свою очередь, являются ценным кормом при промышленном выращивании осетровых рыб [1].

*Dunaliella salina* содержит провитамин А бета-каротин, витамины группы В, витамин С, витамин Е – токоферол, фолиевую кислоту, медь, селен, марганец, стронций, олеиновую, липолевою и липолеиновую полинасыщенные жирные кислоты и аминокислоты: глутамин и аргинин. Регулярное употребление дуналиеллы способствует нормализации обмена веществ, снижению уровня в крови холестерина и триглицеридов, стимулирует выведение токсических веществ, радионуклидов и солей тяжелых металлов.

Материалы и методы. Выделение чистых культур и идентификацию *Dunaliella salina* AR-1 проводили как описано в монографии Масюк Н.П. [8]. Собранный материал делят на три части: одну сохраняют в естественном состоянии; вторую обогащают биогенными элементами, азотом и фосфором, прибавляя одну каплю стерильного 10%-ного раствора KNO<sub>3</sub> и одну - 2%-ного раствора K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; третью используют для получения чистых культур. Для

получения чистых культур используют два метода: метод пассажей на агаровой среде и метод разведений.

Были изучены особенности цикла развития выделенного нового аральского штамма *Dunaliella salina* AR-1. Дано описание внешнего вида, строения и размножения зеленой микроводоросли. Показано, что основным его типом размножения является размножение через образование пальмелл.

Для получения больших количеств биомассы использовали кольцевой лоток с перемешиванием среды роторной мешалкой.

Для каждого типа культиватора подбирали осветитель, дающий освещённость 5000 – 10000 люкс (измеряли люксметром Ю-116 (Россия) или измерителем освещённости CA813 компании AEMC Instrments (USA).

Для обогащения культуральной среды углекислым газом через культуральную среду барботировали воздух или смесь воздуха с углекислым газом.

Температуру культуральной среды 24 - 28°C обеспечивали за счёт кондиционирования воздуха в помещении.

Для поддержания постоянной концентрации солей в среде каждый день измеряли удельную плотность среды или показатель преломления и, в случае необходимости, подливали воду.

Накопление биомассы контролировали фотометрически, измеряя каждый день пропускание ( $T_{550}$ ) света через образцы культуральной среды на фотоэлектроколориметре KF-77 Zalimp (Польша), взвешивая фильтры, через которые фильтровали 10 мл среды и считая количество клеток в 1 мл среды микроскопически в камере Горяева.

Химический анализ *D. Salina AR-1* проводили, как в работе [15].

Исследован состав биологически активных веществ, в том числе каротиноидов, витаминов, липидов и хлорофиллов[7]. В гексановом экстракте биомассы выход общих липидов микроводоросли составлял 70 мг/г сухой массы.

Исследование токсичности биомассы *Dunaliella salina AR-1* было проведено в Институте санитарии, гигиены и профзаболеваний МЗ РУз.

Исследование острой токсичности биомассы микроводорослей *Dunaliella salina AR-1* проводили на белых беспородных крысах массой 100-120 г. Препарат вводили однократно перорально при помощи металлического зонда в концентрации 5 г/мл, растворяя в дистиллированной воде. Контрольной группе животных (n=6) в аналогических условиях опыта вводили стерильную воду для инъекций. Результатами проведенных исследований установлено, что препарат при однократном пероральном применении в выше указанной концентрации не вызывает гибели подопытных белых беспородных крыс в течение 14 суток наблюдения.

Таблица 1. Результаты исследования острой токсичности микроводорослей *Dunaliella salina* на белых беспородных крысах

Название продукта	Доза, гр/мл	Количество во крыс	Курс введения	Наблюдение 1-14 день		
				Заболело	Пахло	Выжило
Микроводоросли <i>Dunaliella salina</i>	5	6	1	0	0	6

После забоя животных при макроскопическом осмотре внутренних органов видимых патологических изменений не выявлено.

Сделан вывод, что биомасса микроводоросли *Dunaliella salina AR-1* по параметрам острой токсичности при внутрижелудочном применении согласно методическому руководству

«Порядок и методология предрегистрационной токсиколого-гигиенической экспертизы пищевых добавок» и методологическому пособию «Методология комплексного и ускоренного нормирования пестицидов в объектах окружающей среды» относится к 4-му классу малотоксичных препаратов.

Результаты и их обсуждение. При исследовании проб из различных гиперсолёных озёр Приаралья было обнаружено от 30 до 60 видов различных галофитных микроводорослей, и среди них доминирующими видами являлись микроводоросли рода Дуналиелла. С использованием специальных методов, были выделены два вида: *Dunaliella minuta* и *Dunaliella salina*. Из этих двух видов только *D.salina* способна накапливать большие количества  $\beta$ -каротинов, поэтому эта микроводоросль была исследована наиболее подробно [15]. Оказалось, что, в отличие от описанных штаммов *D.salina*, которые размножаются в основном продольным делением в подвижном состоянии, Аральский штамм *D.salina* AR-1 даже в благоприятных условиях размножается в слизистых мешках пальмеллах. В основном, подвижные клетки вырастая до 10 - 15 мкм покрываются слизью и образуют пальмелло-подобные структуры, которые опускаются на дно и прикрепляются к стенкам культурального сосуда. Под микроскопом эти пальмелло-подобные структуры перемещаются подобно амёбе, за счёт перетекания слизи.

Химический анализ *D.salina* AR-1 на содержание общих каротиноидов, липидов и витаминов показал, что данный штамм в основном не отличается по содержанию этих веществ от других, описанных в литературе штаммов. Биомасса жёлтой формы содержит 1.6 - 2.3% от сухой массы общих каротиноидов, 7% общих липидов из 17 жирных кислот, из которых около 24% - это наиболее ценные для питания человека незаменимые (эссенциальные)  $\square 6-18:2$  и  $\square 3-18:3$  кислоты. Их % от общих липидов следующий:  $16:1 - 48,4\%$ ;  $\square 9-18:1 + \square 3-18:3 - 16,3\%$ ;  $18:0 - 9,3\%$ ;  $\square 6-18:2 - 8,5\%$ ;  $14:0 - 3,3\%$ ;  $\square 6-20:1 - 3,0\%$ ;  $\square 9-16:1 - 2,5\%$ ;  $9,10 - \square 6-18:1 - 1,5\%$ ;  $22:0 - 1,1\%$ ;  $15:0 - 1,0\%$ ;  $9,10 - \square -18:0 - 0,89\%$ ;  $20:0 - 0,83\%$ ;  $24:0 - 0,75\%$ ;  $17:0 - 0,75\%$ ;  $12:0 - 0,73\%$ ;  $12,13 - \square -9-18:1 - 0,68\%$ ;  $10:0 - 0,48\%$ .

Состав основных витаминов следующий:  $V_1 - 3,9$  мкг/г,  $V_2 - 5,7$  мкг/г,  $V_3 - 0,6$  мкг/г,  $V_6 - 15,7$  мкг/г,  $V_9 - 1,8$  мкг/г,  $C - 7,4$  мкг/г,  $D - 39,8$  мкг/г,  $\alpha$ -токоферол -  $60,5$  мкг/г.

В связи с сообщением о противораковом действии экстрактов из *D. salina* [12,16,17], были проведены опыты по изучению противоракового действия лиофильно высушенной биомассы *D. salina* AR-1, на модели солидной опухоли Эрлиха (СОЭ) мышей. Показано, что пероральное введение мышам с перевитой СОЭ биомассы, приводило на 28 день к торможению роста опухоли на 60%. Сделан вывод о перспективности дальнейших исследований биомассы *D. salina* AR-1 на противоопухолевую активность.

В литературе имеется сообщение, что спиртовой экстракт *D. salina* введённый перорально вызывает нормализацию некоторых биохимических показателей у экспериментальных крыс с  $AlCl_3$ -индуцированным нейродегенеративным состоянием (НДС), сходным с болезнью Альцгеймера [5, 6, 10, 11]. В наших экспериментах пероральное введение биомассы *D. salina* AR-1 крысам с моделью нейродегенеративного состояния, индуцированного хлоридом алюминия ( $AlCl_3$ ) вызывает некоторое восстановление изменений в поведенческой активности животных.

Установлено, что микроводоросли *Dunaliella salina* по параметрам острой токсичности при внутрижелудочном применении в эксперименте относится к 4-му классу малотоксичных препаратов. Эти продукты не вызывают патологических изменений в организме животных в эксперименте.

Биомасса микроводоросли *Dunaliella salina* AR-1 относится к четвертому классу токсичности, не оказывает кожно-резорбтивного, кожно-раздражающего действия, раздражающего действия на слизистую оболочку глаз лабораторных животных. Кумулятивные свойства в изученном препарате также отсутствовали.

Таким образом, наши данные показывают, что биомасса Аральского штамма микроводоросли *D.salina AR-1* может быть использована в качестве препаратов биологически активных добавок (БАД) для профилактики авитаминозов, некоторых онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

### Литература

- 1 Аральское море и Приаралье Обобщение работ НИЦ МКБК по мониторингу состояния и анализу ситуации. Ташкент, Baktria Press, 2017 (рус), Paris, UNESCO, 2017 (eng).
- 2 Ben-Amotz A Bioactive compounds. In: The Alga *Dunaliella*. Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology. Eds. Ami Ben-Amotz et al.// Science Publishers. Enfield, New Hampshire USA. 2009. P.189-208.
- 3 Borowitzka M.A., Huisman J.M. The Ecology of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae, Volvocales): Effect of Environmental Conditions on Aplanospore Formation// *Botanica Marina* 1993. Vol.36, P.233-243.
- 4 Borowitzka M.A. Chapter 3 - Biology of Microalgae. 6.8.3 *Dunaliella* (*Chlorophyta*, *Chlorophyceae*, *Dunaliellaceae*) P. 23-72. In: *Microalgae in Health and Disease Prevention*. Edited by: Ira A. Levine and Joël Fleurence. Elsevier Inc. 2018. 354 pp. ISBN 978-0-12-811405-6 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00009-8>
- 5 El-baz F.K., Aly H.F., Role of *Dunaliella salina* extract in competing Alzheimer's Disease in experimental animals//*International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2016. Vol. 7(4) P. 324-331. DOI: 10.22376/ijpbs.2016.7.4.b324-331
- 6 El-Baz F.K., Aly H.F., Khalil W.K.B., Booles H.F., Ali G.H. Antineurodegenerative activity of microalgae *Dunaliella salina* in rats with Alzheimer's disease//*Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol.10. Iss.1. P.135-139.
- 7 Козлов Э.И., Солунина И.А., Любарева М.Л., Надточий М.А. Определение витаминов А, D, Е в поливитаминных препаратах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии//*Хим.-фарм. журн.* 2003. Т. 37. №10. С. 50-53.
- 8 Масюк Н.П. Морфология, систематика экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. Киев: Наукова думка, 1973. - 244 с.
- 9 Малиновская Н. А. «Роль НАД<sup>+</sup>- зависимых механизмов в регуляции нейрон-глиальных взаимодействий при ишемии головного мозга и нейродегенерации», диссертация на соискание ученой степени д.м.н., спец. 14.03.03 – патологическая физиология, Кемерово, 2014г.. с. 91.
- 10 Manczak M, Anekonda TS, Henson ED, Park BS, Quinn J, Reddy PH. Mitochondria are a direct site of A beta accumulation in Alzheimer's disease neurons: Implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. *Hum Mol Genet* 2006;15(9):1437-49.
- 11 Мойсеенок А. Г., Омелянчик С.Н., Шевалье А.А., Евкович И.Н. и др. «Способ моделирования нейродегенеративного поражения центральной нервной системы у крыс» патент Республики Беларусь. BY 11160 C1 2008.10.30.
- 12 Moghadassi, Z., Emtyazjoo, M., Rabanie, M. & Emtyazjoo, M., Study Effect of anti-cancer ethanol extract *Dunaliella salina* isolated from Hoz-soltan against squamous cell carcinoma in vitro// *Iranian journal of medicinal and aromatic plants*. 2011. V.27. P.306-315.
- 13 Музафаров А.М. Флора водорослей водоёмов Средней Азии. Ташкент. Фан. 1965. УзССР. 544 с.
- 14 Музафаров А.М., Таубаев Т.Т. Культивирование и применение микроводорослей. Ташкент. Фан. УзССР. 1984. 136 с.
- 15 Тонких А.К., Фёдорова О.А., Верушкина О.А., Разаков Р.М. Мирзарахметова Д.Т. Микроводоросль *D. salina* из водоёмов Приаралья // *Вестник Аграрной науки Узбекистана*. 2020. №3 (81). С.176-180.



16 Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К., Андропова Н.В., Гарин А.М. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. В кн. «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Под общей ред. Р.У.Хабриева. Москва, 2005, С.637-682.

17 Sakmak Y.S., Kaya M., Asan-Ozusaglam M. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga // EXCLI Journal - 2014. - №13.-P.679-690.

УДК 582.26 (582.2) (574.52)

## АЛАКӨЛ КӨЛІ БАЛДЫРЛАР ТҮРЛЕРІНІҢ АЙМАҚТЫҚ КЕЗДЕСУİNДЕГІ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

Джиенбеков А. К.,<sup>1</sup> Нурашов С. Б.,<sup>1</sup> Саметова Э. С.,<sup>1</sup> Джумаханова Г. Б.,<sup>2</sup> Бигалиев А. Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ботаника және фитоинтродукция институты, Алматы, Қазақстан

<sup>2</sup> эл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы, Қазақстан

e-mail: [zh-ai-bek@mail.ru](mailto:zh-ai-bek@mail.ru)

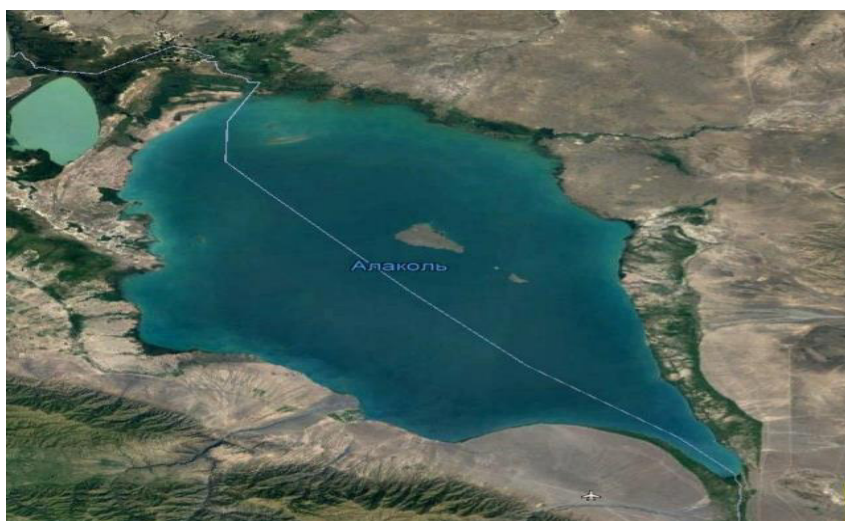
**Тұжырым.** Елімізде көптеген ерекше қорғауға алынған табиғи аймақтар кездеседі: питомниктер, ұлттық саябақтар, қорықтар, жабайы табиғи аймақтар, табиғат ескерткіштері, ботаникалық бақтар мемлекеттің биологиялық әртүрлілігін сақтау үшін құрылған. Осы салалардың көбінде флорист ғалымдар тамырлы өсімдіктерді түгендеуге қатысып, ғылыми зерттеулер жүргізді. Өсімдіктерді зерттеуге үлкен қызығушылық болса да, әртүрлі табиғатты қорғау қауымдастықтарында олардың алуан түрлілігіне байланысты зерттеулер, әсіресе, су объектілерінің флорасын зерттеу жеткіліксіз. Су балдырларының құрамын зерттеу төменгі деңгейде қалып отыр. Дегенмен альголог ғалымдар Қазақстанның түрлі өңірлерінің ерекше қорғалатын табиғи аумақтарында балдырлар флорасын зерттеуді жүргіздік. Бұл мақалада авторлар 15 өзендер келіп құйатын (Үржар, Қатынсу, Емелқұйса, Ырғайты, Жаманты, Жаманөткель, Тасты т.б) Алакөл көліндегі диатомды балдырлардың көл бойындағы кездесу ерекшеліктері жайында алғаш рет мәліметтер беріліп отыр. Көл аймақтарынан анықталған балдырлар түрлері; Көктума-114, Қамысқала-76, Ақши-18 түрлер. Анықталған түрлердің биологиялық сипаттамасы жасалып, заманауи систематикасы жасалынған. Зерттелуші көлден анықталған балдырлардың көпшілігі әртүрлі су айдындарында кеңінен таралған – космополит түрлер болып саналады. Көрсетіліп отырған түрлердің көпшілігі *планктондық, перифитондық және аздаған түрлері бентостық түрлерге жатады.*

**Кілттік сөздер:** диатомды балдырлар, планктон, перифитон, бентос, систематика, Алакөл көлі.

### Кіріспе

Алакөл көлі Қазақстандағы ішкі су қоймаларының ішінде көлемі жағынан екінші орын алатын әрі республикамыздағы тұйықталған (ағып шықпайтын) көл. Алматы мен Шығыс Қазақстан облыстарының шегінде орналасқан Алакөл солтүстік шығысында Балқаш-Алакөл ойпатындағы Жетісу (Жоңғар) Алатауының шығыс жоталары мен Тарбағатайдың күнгей жоталарының арасында жатыр. Көл жартылай шөлейтті аймақта орналасқан. 1998 ж 21 сәуірде Қазақстан Республикасының үкімет қаулысымен өсімдіктер мен жануарлар дүниесін, табиғи кешендерді, сонымен қоса Алакөл көлі аралдарындағы реликті шағалалар мен отырықшы құстармен танысу мақсатында Алакөл Мемлекеттік Табиғи Қорығы құрылды (АМТҚ). Бұл қорық Алматы облысы Алакөл ауданы мен Шығыс-Қазақстан облысы Үржар ауданы шекараларында орналасып, 20743 га аумақты алып жатыр, мұның ішінде 18453 га Алматы облысының территориясында болса, 2290 га Шығыс-Қазақстан облысының территориясына жатады. -Теңіз деңгейінен-247,3 м абсолюттік биіктікте орналасқан. Көлдің

жалпы аумағы-2696 км<sup>2</sup>, ұзындығы-104 км, ең шығыңқы ені-52 км, жағалауларының ұзындығы-384 км, орташа тереңдігі-22,1 м, ең терең жері-54 м, көлдегі су көлемі-58-60 км<sup>3</sup>, су жиналатын алабы-47859 км<sup>2</sup>, судың тұнықтығы-0,6-0,8 м аралығында [1, 2].



Сурет 1. Алакөл көлінің картасы

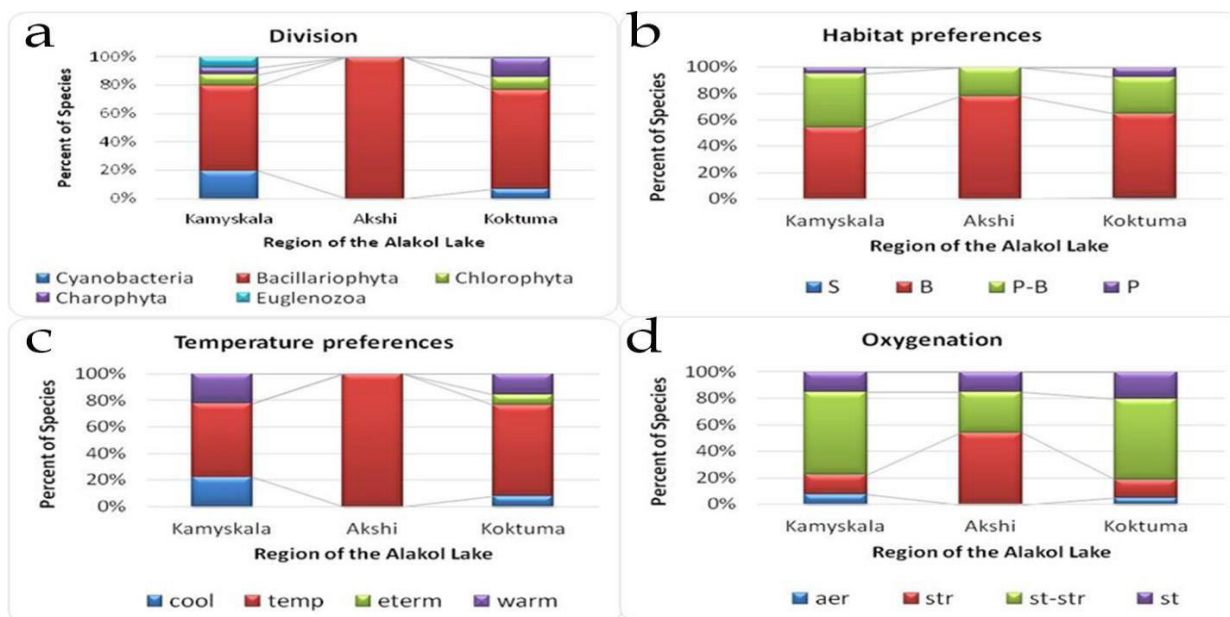
### **Материал және зерттеу әдістері**

Мақалаға әзірленген материалдар 2015-2018 жылдары Алакөл көліне арнайы ғылыми экспедиция кезінде жинақталды. Экспедиция барысында микробалдырлардың жалпы саны 82 альгологиялық сынамалары жинақталып, формалиннің 4%-дық ерітіндісі мен 96%-дық спиртте фиксацияланды, Зерттеу нысанының басында географиялық GPS координаталық нүктелері, судың рН-концентрациясы эмбебап индикаторлы қағазбен анықталды, судың температурасы-термометрмен өлшеніп журналға жазылды, судың тұнықтылығы да эмбебап Secchi дискісімен өлшенді. Материал жинау барысында балдырларды экологиялық тобына байланысты планктонды балдырларды - №76 Апштейн торының көмегімен жиналды, бентостық балдырлар-рутнер батометрінің көмегімен алынса перифитондық балдырларды әртүрлі қырғыштар көмегімен жинақталды. Балдырлар түрлерін анықтауда «Motic BA 400, МБИ-3, Amplival, CarlZeiss Axioskop-40» жарық микроскоптары қолданылды. Барлық балдырлар түрлерінің микроскоптық окуляр-микрометр көмегімен өлшемдері өлшеніп, формасы ОМАХА35100U» және «Motic BA-400» заманауи микроскоптарымен суретке түсірілді. Балдырлардың түрлік құрамын анықтауда альгологиялық және гидроботаникалық әдістер мен халықаралық анықтауыш әдебиет көздері пайдаланылды (Round F.E т.б 1990., О. В. Анисимова, М.А. Гололобова 2006., С. И. Генкал т.б. 2013), ал анықталған балдырларды заманауи систематикалық жүйеге келтіруде «Algaebase (Guiry and Guiry, 2018)» базасын қолданылды [3-9].

### **Алынған нәтижелер және оларды талқылау**

Алакөл көлінен жинақталған балдырлар сынамаларына микроскопиялық сараптау жұмыстары толықтай аяқталып, нәтижелер органикалық ластану көздерін анықтау үшін биоиндикацияның талдауын жүргізуге алып келді. Осы мақсатта біз балдырлардың сынамалары мен үлгілері алынған нүктелерде табылған барлық индикаторлық түрлерін көлдің жағалауы бойымен солтүстіктен оңтүстікке үш іріктеу аймағына бөлдік, олар: Қамысқала, Ақши және Көктума аймақтары. Әр аймақтың өзіндік балдырлар алуантүрлілігі бар, Қамысқала – 76 түр, Ақши -18 түр және Көктума – 114 балдырлар түрі анықталған. Төмендегі (2 а суретте) көлдің үш бөлігінде анықталған балдырлар түрлерінің саны көрсетілген. Барлық аймақтарда диатомды балдырлар басым екендігін көрсетті, бірақ Қамысқала аймағында біршама өзгешеліктер байқалады, бұл аймақта балдырлардың барлық бөлім түрлері

кездескенін көрсетеді. Көл аймағының Ақши жағалауында бентостық балдырлар басым болды (2 b сурет). Судың температура көрсеткіштеріне байланысты көлдің Көктума аймағында (оңтүстік жағалауы) балдырлар түрлерінің кездесуі алуантүрлі, ал солтүстік Камысқала аймағында суық суда мекен етушілер мен қатар, жылы суда мекен етуші түрлерде табылды (2 c сурет). Бұлай болуына қоршаған ортаның екі факторы себеп бола алады; ол біріншіден саяз бухталардағы судың жылынуы, екіншіден жерасты суы ағысының әсері. Экологиялық топтарының басым болуына қарай Ақши аймағында су құрамы оттегімен жақсы қаныққан, бірақ аэрофильдер көл аймағының оңтүстігімен солтүстігінде кездескен (2 d сурет) [10, 11].



Сурет 2. Алакөл көлінің Қамысқала, Ақши және Көктума аймақтарынан алынған сынамалар мен үлгілердегі таксономиялық бөлімдерінде балдырлар түрлерін бөлу және субстраттың экологиялық көрсеткіштері мен су температурасы және оксигенация ерекшелігі.

**Аббревиатурасы:** **a-** түрлердің таксономиялық бөлімдерге бөлінуі. **b-** мекен ету ортасы: P - планктонды, P-B – планктонды және бентостық, B - бентостық, кең ауқымда. S - топырақ. **c-** су температурасының мәні: *warm* – жылы суда мекен етушілер; *cool* – салқын суды мекен етушілер; *temp* - су температурасы орташа немесе су температурасы маңызды емес, *eterm* - эвритермді. **d-** оксигенация индикаторлары: *st* – ағынсыз су, *str* – ағынды су, *st-str* – ағыны төмен су.

### Қорытынды

Елімізде бірнеше ірі көлдер мен теңіздер бар, атап айтар болсақ, Каспий және Арал теңіздері, Балхаш және Алакөл т.б көлдер. Сондықтан біз биоиндикация әдісімен Алакөл көліне зерттеу жұмыстарын жасадық. Осыған дейін еліміздегі жартылай құрғақ аймақтағы Балхаш көлінің балдырларына биоиндикация әдісімен зерттеу жұмыстары жасалынған (Крупа и др., 2014; Баринава и др., 2017; Крупа и др., 2017a, b, c; Barinova et al., 2018a, b). Биоиндикация әдісімен жасалынатын зерттеу жұмыстары өзен-көлдердің және су қоймаларының антропогенді ластануы кезінде тиімді екендігін көрсетеді. Алакөл көлінің биоиндикациясына 2015-2018 жылдары жиналған сынамалардан анықталған балдырлардың 208 түрі алынды. Зерттеудің негізгі талабы Алакөл көлінде табылған балдырлар тізіміндегі индикаторлы түрлерін анықтау және биоиндикацияның статистикалық әдістерін қолдану арқылы судың сапасын және негізгі әсер ету параметрлерін бағалау. Жоғарыдағы келтірілгендей көл аймағында балдырлар түрлерінің таралуы бірдей емес, көрсетілген 3 аймақ

арасында көлдің Көктума жағалауында барлық балдырлар түрлерінің алуантүрлілігі жоғары болса, көлдің барлық аймағында диатомды балдырлар түрлері доминант екендігін көрсетеді, демек, осы аймақ диатомды балдырлардың тіршілік етуіне ыңғайлы, бұған алып келетін бірнеше себептерді атап айтуға болады, біріншіден бұл аймақта судың рН концентрациясы (7,5) басқа аймаққа қарағанда төменірек болуы, екіншіден бұл аймақта көл суы басқа аймаққа қарағанда таза (Диск Sechi өлшемі 1.25-1.40 м), үшіншіден бұл аймақтағы судың температурасы басқа аймаққа қарағанда жылы болуы (23-24<sup>0</sup>С), судың мұндай жылы болуы көлге Жаманты өзенінің ағып қосылуынан деп қарастыруға болады, себебі анықталған балдырлардың индикаторлық түрлері осындай нәтижелерді көрсетеді [12].

### *Әдебиеттер*

1. <http://almatyregion-tour.kz>
2. Джиенбеков А. К. Алакөл көлінің балдырларының алуан түрлілігі. VI Халықаралық Фараби оқулары. Алматы, Қазақстан, 2-12 сәуір, 22 б. -2019 ж.
2. Генкал С. И., Куликовский М. С., Михеева Т. В., Кузнецова И. В., Лукьянова Е. В. Диатомовые водоросли планктона реки Свислоч и ее водохранилищ. -М.: Научный мир, 2013.- 51-82 б.
3. Анисимова О. В., Гололобова М. А. Краткий определитель родов водорослей.-Москва 2006.- 80-109 б.
4. Водоросли вызывающие «цветение» водоемов Северо-запада России. Москва.-2006.- 195, 207,207-210 б.
5. Масюк Н. П., Кондратьева Н. В., Вассер С. П. Водоросли. Справочник. – Киев, 1989.- 608 б.
6. Определители пресноводных водорослей СССР: в 14-ти выпусках.-М.: 1951; 1953; 1982; 1983.-62-73 б.
7. Lothar Kalbe. Kieselalgen in Binnengewässern. Diatomeen. Wittenberg Lutherstadt.-1980.- 206 p.
8. <http://algaebase.org>
9. Киселева И. А., Зинова А. Д., Курсанов Л. И. Определитель низших растений, 2 том, водоросли.-Москва.-1953.-63-68 б.
10. Jiyenbekov A., Barinova S., Bigaliev A., Nurashov S., Sametova E., Fahima T. Bioindication using diversity and ecology of algae of the Alakol lake, Kazakhstan. Applied Ecology and Environmental Research, January 2018.-P. 7799-7815.DOI: 10.15666/aer/1606\_7799783
11. Berezovikov, N. Alakol State Nature Reserve. – In: Yaschenko, R. V. (ed.).Reserves of Central Asia and Kazakhstan. Protected natural areas of Central Asia and Kazakhstan. Issue. 1. Tethys, Almaty, (2006): -P.12-13. (in Russian).
12. Barinova, S. How to Align and Unify the Cell Counting of Organisms for Bioindication. – International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources 2(2): (2017a):-P. 555-585. DOI: 10.19080/IJESNR.2017.02.555585.

УДК 579.66:579.68

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИОРИТЕТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ БИОДЕГРАДАЦИИ  
НЕФТЕПРОДУКТА ТОЛУОЛА**

Д.Б. Джусупова, А.К.Сыздыкова

*Казахский национальный педагогический университет им. Абая, г.Алматы, Казахстан  
e-mail: [dariya\\_2507@mail.ru](mailto:dariya_2507@mail.ru)*

**Аннотация.** В статье показано широкое применение биотехнологических методов очистки окружающей среды от нефти и нефтепродуктов, основанных на использовании высокоактивных микроорганизмов-деструкторов, способных использовать углеводороды нефти. Приведены результаты собственных исследований по разработке технологий биоремедиации, предусматривающей использование бактериального штамма рода *Pseudomonas*, способного к деградации толуола – токсичного нефтепродукта нефтехимических производств.

**Ключевые слова:** нефтепродукты, биотехнология, микробиологический метод, загрязнения, толуол, деструкция, сточные воды.

Загрязнение природной среды нефтью и продуктами ее переработки является одной из сложнейших проблем современности. Ни один другой загрязнитель, как бы опасен он ни был, не может сравниться с нефтью по широте распространения, количеству источников загрязнения и величине единовременных нагрузок на все компоненты природной среды

Возрастающее загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами приводит к серьезным нарушениям природных экосистем, биологического равновесия и биоразнообразия. Нефть и нефтепродукты вызывают практически полную депрессию функциональной активности флоры и фауны, пагубно действуя на все звенья биологической цепи [1,2].

Для предприятий нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности вопросы охраны окружающей среды становятся все более актуальными. Возросшая экологическая опасность данных предприятий связана с выбросами в окружающую среду опасных веществ, появлением новых, зачастую трудноразлагаемых отходов и несовершенными природоохранными мероприятиями.

Нефть и продукты ее переработки (толуол, ксилолы, стирол, дизельное топливо и др.) оказывают отрицательное воздействие на воздух, воду и почву и потому предприятия по добыче и переработке нефти остаются крупнейшими в промышленности источниками загрязнения окружающей среды.

Биоремедиация, т.е. очистка нефтезагрязненной почвы и воды с использованием препаратов углеводородокисляющих микроорганизмов, относится к наиболее широко применяемым биотехнологическим методам ликвидации углеводородного загрязнения окружающей среды [3,4].

Определяющая роль углеводородокисляющих микроорганизмов в процессе очистки нефтезагрязненных экосистем была описана многими исследователями [5-7]. Тем не менее, несмотря на значительное количество исследований в этом направлении, поиск путей эффективной биodeградации нефти и нефтепродуктов на основе этих микроорганизмов представляется весьма актуальным. Общеизвестно, что микроорганизмы способны сравнительно легко превращать молекулы ароматических углеводородов, причем по мнению многих авторов, приоритетная роль в процессах их окисления принадлежит бактериям рода *Pseudomonas* [8,9].

Толуол  $C_6H_5(CH_3)$ , который явился объектом исследования, обладает выраженным токсическим действием. Техногенными источниками поступления толуола в окружающую среду являются выбросы производств органического синтеза, при очистке нефти, в качестве компонента автомобильных выхлопных газов и т.д. Попадая в окружающую среду, толуол оказывается, в основном, в атмосфере и поверхностных водах. Толуол, являясь ядом общетоксического действия, действует на живые организмы в очень низкой концентрации (0,6 %) [10].

Установлено, что ассимиляция ароматических углеводородов характерна лишь для отдельных штаммов некоторых видов микроорганизмов и является штаммовым свойством, возникающим в результате длительной адаптации.

Поэтому главной задачей при разработке биотехнологий для очистки окружающей среды от органических поллютантов является выделение и отбор высокоактивных культур микроорганизмов – деструкторов токсичных органических соединений.

В настоящее время поиск таких микроорганизмов-деструкторов может вестись вполне целенаправленно, если использовать адаптированную к определенным субстратам микрофлору. Условия для подобной адаптации складываются, например, в нефтезагрязненных почвах, активных илах очистных сооружений и сточных водах различных химических производств.

Создание таких селективных возможностей позволило нам выделить бактериальный штамм рода *Pseudomonas*, обладающий высокой деструктивной активностью и способностью к росту при высоких концентрациях толуола в качестве единственного источника углерода и энергии.

Дальнейшие проведенные исследования в лабораторных условиях на примере очистки промышленных стоков, содержащих высокотоксичный загрязнитель - толуол, позволили выделить несколько этапов микробиологической очистки сточных вод промышленного предприятия:

- проверка окислительной способности микроорганизмов по отношению к синтетическому органическому веществу;
- определение продуктов трансформации и деструкции загрязнителя;
- разработка технологии биохимической очистки модельных сточных вод с применением штамма – деструктора толуола.

Таким образом, для осуществления последнего этапа были проведены исследования, результатом которых явилось выделение и последующее изучение активного углеводородокисляющего бактериального штамма рода *Pseudomonas*, способного метаболизировать загрязнитель до нетоксичных или менее токсичных соединений. Изучение путей деструкции толуола, наиболее широко встречающийся в промышленных сбросах и выбросах, бактериальной культурой *P.aeruginosa* ДС-26 выявило наличие в клетках этого микроорганизма специфических ферментов окисления ароматических углеводородов. Изучение процесса окисления ароматического кольца при росте культуры *P.aeruginosa* ДС-26 на толуоле показало наличие в клетках этой бактерии как ключевых ферментов расщепления ароматического кольца - метапирокатахазы, пирокатахазы, так и специфических толуолокисляющих ферментов - толуолдиоксигеназы и бензилалкогольдегидрогеназы.

Благодаря такому ферментному разнообразию, бактериальное окисление толуола осуществлялось по двум путям: прямому гидроксигированию ароматического кольца через образование 3-метилкатахола и последовательному окислению метильного фрагмента с образованием интермедиата, т.е. бензойной кислоты.

Предварительное изучение путей деструкции толуола позволило рекомендовать выделенную активную бактериальную культуру для исследований по биохимической очистке модельных стоков, содержащих в качестве основных загрязнителей толуол.

Опыты проводили на лабораторной модели установки аэротенк-аэрофильтр по очистке промышленных сточных вод с использованием активного штамма *P. aeruginosa* ДС-26. Для получения стабильных результатов опыт продолжался в течение 2-х месяцев.

Данные, полученные на лабораторной модели установки по очистке синтетического стока от толуола, представлены в таблице 1, из которой следует, что использование выделенного бактериального штамма в данной модели обеспечивает полную очистку воды, содержащей до 2 г/л толуола.

Таблица 1. Показатели работы установки по микробной очистке воды от толуола штаммом *P. aeruginosa* ДС-26 в условиях непрерывного культивирования

Штамм	Концентрация толуола, мг/л		рН		ХПК		Количество бактерий в 1 мл жидкости аэротенка
	I	II	I	II	I	II	
<i>P. aeruginosa</i> ДС-26	1000	0	7,2	6,9	2160	75	$(9,5 \pm 0,7) \times 10^7$
	1500	0	7,1	6,9	4220	120	$(5,8 \pm 0,4) \times 10^8$
	2000	0	7,2	6,8	5340	170	$(2,5 \pm 0,1) \times 10^9$
<i>Примечание:</i> I – в подаваемой жидкости, II – в вытекающей							

Процесс биохимического разложения толуола сопровождался незначительным снижением рН стока – с 7,2 до 6,8. Снижалось также в 30 раз ХПК выходящей жидкости при исходной концентрации толуола 2 г/л, изменялась численность микроорганизмов в 1 мл жидкости аэротенка при различных исходных концентрациях вещества в стоке. Полностью толуол разрушался культурой *P. aeruginosa* ДС-26 в условиях непрерывного культивирования за 24 часа при максимальной концентрации вещества 2 г/л. При этом количество бактерий деструкторов толуола на установке при высева на МПА составляло 85 и 70% соответственно от всех микроорганизмов жидкости аэротенка.

Таким образом, проведенные исследования позволили показать преимущества микробиологических методов очистки сточных вод от токсичного продукта нефтехимических производств с целью их дальнейшего внедрения в производственных условиях.

#### *Литература*

- 1 Гречканов О.М., Татарский А.А. Анализ процесса загрязнения растительного покрова в районе размещения нефтедобывающего комплекса // Экология. - 1991. - № 6. - С. 71-73
- 2 Бородавкин П.П., Ким Б.И. Охрана окружающей среды при строительстве и эксплуатации магистральных трубопроводов. - М.: Недра, 1981. - 160 с.
- 3 Margesin R., Schinner F. Bioremediation (natural attenuation and bio-stimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 67. – P. 3127-3133.
- 4 Murygina V., Arinbasarov M., Kalyuzhnyi S. Bioremediation of oil polluted aquatic systems and soils with novel preparation «Rhoder» // Biodegradation. – 2000. – Vol. 11. – P. 385-389.
- 5 Nilanjana D., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview // Biotechnology Research International. – 2011. Vol. 2011. – P. 1-12

6 Xu N., Bao M., Sun P., Li Y. Study on bioadsorption and biodegradation of petroleum hydrocarbons by a microbial consortium // Bioresour Technol. – 2013. – V. 149. – P.22-30.

7 Yu C., Yao J., Cai M., Yuan H., Chen H. et al., Polycyclic aromatic hydrocarbons degrading microflora in a tropical oil-production well. Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2014. – Vol. 93. – P.632-636.

8 Emtiazi G., Shakarami H., Nahvi I. and Mirdamadian S. H. Utilization of petroleum hydrocarbons by Pseudomonas sp. and transformed Escherichia coli // African Journal of Biotechnology. – 2005. – Vol. 4, № 2. – P. 172-176.

9 Stringfellow W.T., Aitken M.D. Comparativ phisiology of phenantren degradation by two dissimilar Pseudomonads isolated from contaminated soil //Can.J.Microbiol. - 1994. - Vol.40. - P.432-438.

10 Филов В.А. Вредные химические вещества. - Л.: Химия,1990. - 732 с.

UDC 574

## **ПРОБЛЕМЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ СБРОСА В НИХ СТОЧНЫХ ВОД НА ПРИМЕРЕ ОЗЕРА ТАЛДЫКОЛЬ.**

Д.О. Евнеева, А.С. Касымова, А.Б. Абжалелов, А.М.Карымсаков  
*Евразийский национальный университет имени Л.Н.Гумилева, г.Нур-Султан, Казахстан*  
e-mail: [evdiior@gmail.com](mailto:evdiior@gmail.com)

**Аннотация.** В настоящее время проблема охраны водных объектов стала одной из приоритетных. В данной статье поднимается вопрос о проблемах загрязнения водоемов сточными водами. Показана краткая история образования и загрязнения озера Талдыколь.

**Ключевые слова:** сточные воды, загрязнение водоемов.

В процессе хозяйственной деятельности человека потребляется огромное количество воды, которая после использования образует стоки, загрязненные различными веществами.

Проблема сточных вод в крупных городах приобретает большую актуальность во всем мире, в том числе в Казахстане. Ежегодно человечество потребляет огромное количество воды. После использования в хозяйственно-бытовой жизнедеятельности большая часть воды сбрасывается в реки и водоемы, при этом стоки становятся все более и более загрязненными [1].

Сточные воды, в зависимости от источника, включают в себе различные содержания, которые в дальнейшем являются одной из причин загрязнений водоемов. Вследствие этого, проблема очистки сточных вод имеет особую остроту.

Помимо механического и химического загрязнения, существует так называемое, тепловое загрязнение водоемов, которое предствляет собой сброс подогретой воды с промышленных предприятий. Все это приводит к тому, что способность в самоочищению у водоемов теряется.

Решение проблемы очистки сточных вод возможно с использованием инновационных технологий и современного оборудования [2].

В 1960-е годы в городе Целиноград главным и единственным приемником сточных вод стал Большой Талдыколь.

Исторически талдыккольская система озер – это естественный водоем, состоящий из целой цепи озер, соединенных между собой. Озеро Талдыколь расположено в левобережной пойме реки Есиль города Нур-Султан.



Природное озеро Талдыкколь служило накопителем-испарителем сточных вод с 1960-х годов. Озеро было обнесено искусственной дамбой и озеру Большой Талдыкколь был присвоен статус накопителя сточных вод (рис. 1).

Изначально площадь озера составляла 700 га. Со временем его размеры выросли до 2020 га. В период начала эксплуатации озера в качестве накопителя оно было обваловано дамбой - глубина озера с двух метров выросла до восьми. Но, тем не менее, последние несколько лет из-за резкого увеличения количества сточных вод, сбрасываемых в озеро, имелась постоянная угроза прорыва дамбы и затопления города.

Накопитель является одним из серьезных очагов воздействия на гидрографическую среду города. Вокруг озера образовались болота, заросшие камышом [2].



Рисунок 1. Фрагмент карты города Целиноград 1983 года

В накопитель с течение более 50 лет сбрасывались и аккумулировались сточные воды различного качества, что привело к выделению неприятного запаха, который разносится на близлежащие территории.

С 2015 года сброс сточных вод в Талдыкколь был прекращен, но проблема зловонья еще не до конца решена.

С разрастанием города его границы очень близко подошли к озеру, расстояние от озера Талдыкколь, например, до развлекательного центра Хан-Шатыр составляет 3 км, до площадки ЭКСПО - 5 км и это доставляет немало проблем жителям города, а также мешает имиджу города.

В связи с отрицательным воздействием на экологическую ситуацию руководством города было принято решение об очистке озера, а именно извлечении донного слоя ила и последующим созданием прогулочных мест на территории озера.

К концу 2017 года были завершены работы по очистке водоема и уменьшению его акватории до естественных границ с 2200 до 700 гектаров [3] (рис. 2).



Рисунок 2. Границы системы озёр Талдыколь 1950-1980 годов на современной карте

Сейчас в озеро поступают только поверхностные и грунтовые воды с естественным гидрологическим режимом. Однако использование накопителя как природного озера возможно после доведения качества воды до необходимых норм, соответствующих поверхностным водам.

В настоящее время качество воды в озере улучшилось, но не соответствует нормативам. На это показывает тот факт, что происходит обильное цветение и заболачивание озера в летнее время. К тому же в весенний период в районе накопителя Талдыколь налюдается неприятный запах, который доносится до жилых кварталов города. Поэтому необходимо оздоровить озеро, очистить от органических загрязнений, чтобы исключить цветение в летний период.

### *Литература*

1 Зайнуллин Р.Р., Галяутдинов А.А. Проблемы очистки городских сточных вод // Междунар. инновац. ж. «Инновационная наука». - 2016. - № 6. – С. 68

2 Тазабаева К.А., Жакиева А.Ж., Алдынгурова Ф.Ж. Разработка технологии биологической очистки озёр-накопителей канализационных стоков активными микроорганизмами // Қазақ инновациялық гуманитарлық-заң университетінің хабаршысы. - 2018. - № 3 (39). - С.258-263.

3 Черныш Н.А., Ролланқызы З. Эко - и дизайн реабилитация водоемов в градостроительной структуре Астаны // Вестник казахского гуманитарно-юридического инновационного университета. - 2018. - №1 (37). - С.160-166.

4 Интернет-источник: <https://liter.kz/akimat-nur-sultana-ne-priznal-chto-ozero-malyj-taldykol-osushayut/>

УДК.551.584.41

## ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕКРЕАЦИОННЫХ НАГРУЗОК НА ЛЕСНЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ РОЩЫ БАУМА

Б.Т.Жанатаев<sup>1</sup>, М.Е. Даулетқұл<sup>1</sup>, З.Б. Тұңғышбаева<sup>1,2</sup>, А.К. Джумагалиева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахского национального педагогического университета имени Абая, г. Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Казахстанско-Российский медицинский университет, г. Алматы, Казахстан

e-mail: Bauyrzhan\_Zhanataev@mail.ru

**Аннотация.** Излагаются проблемы воздействия рекреационных нагрузок на природные экосистемы. Рекреационная нагрузка — это степень непосредственного влияния отдыхающих людей (туризм, сбор «даров» леса, рыболовство и др.), их транспортных средств, строительства временных и вторых (дачных) жилищ и других сооружений на природные комплексы или рекреационные объекты. Рекреационная нагрузка выражается количеством людей или человеко-дней на единицу площади или на рекреационный объект за определенный промежуток времени (обычно день или год). Рекреационные нагрузки подразделяются на безопасные, включающие как низкие, так и предельно допустимые нагрузки, опасные, критические и катастрофические. Целью исследования явилось исследование закономерностей трансформации почвенного покрова и оценка его состояния на рекреационных территориях роща Бауман.

**Ключевые слова:** рекреация, рекреационная нагрузка, рекреационная дигрессия.

Рекреация рассматривается как один из антропогенных факторов влияния на растительность, приводящих к ее смене [1]. Рекреация — это отдых вне жилища с целью восстановления здоровья и трудоспособности, происходящий на лоне природы, или во время туристической поездки, связанной с посещением интересных для обозрения мест [2]. Рекреационная нагрузка — это степень непосредственного влияния отдыхающих людей (туризм, сбор «даров» леса, рыболовство и др.), их транспортных средств, строительства временных и вторых (дачных) жилищ и других сооружений на природные комплексы или рекреационные объекты. Выражается количеством людей или на единицу площади или на рекреационный объект за определенный промежуток времени (обычно день или год) [2]. Рекреационные нагрузки подразделяются на безопасные, включающие как низкие, так и предельно допустимые нагрузки, опасные, критические и катастрофические [1]. Безопасной можно считать такую нагрузку, при которой в природном комплексе не происходит необратимых изменений. Воздействие таких нагрузок на природный комплекс приводит ко 2-ой или 3-й стадии деградации. Нагрузку, соответствующую 2-ой стадии, условно называют «низкой», так как природный комплекс способен выдержать большую нагрузку, не теряя при этом восстановительной силы. Предельно допустимая рекреационная нагрузка приводит природный комплекс к 3-й стадии дигрессии. В том случае, когда природный комплекс переходит с 3-й на 4-ю стадию дигрессии, т.е. перешагивает границу устойчивости, рекреационные нагрузки, воздействующие на него, считаются опасными. Критические нагрузки соответствуют 4-й стадии дигрессии. И, наконец, катастрофическими будут нагрузки, приводящие природный комплекс к 5-й стадии дигрессии, при которой нарушаются связи как между природными компонентами, так и между их составными частями [3]. В начале процесса дигрессии, пока воздействие отдыхающих еще не велико, заметным изменениям подвергаются лишь биотические компоненты: растительность и животный мир. Эти изменения можно считать обратимыми, так как если прекратить внешнее воздействие, природный комплекс со временем вновь вернется в исходное состояние путем самовосстановления. Процесс восстановления исходного природного комплекса после снятия рекреационной нагрузки может быть назван реверсией дигрессии, а сам процесс дигрессии

природного комплекса можно считать обратимым. Сущность процесса дигрессии состоит в изменении всего природного комплекса в результате постепенного накопления изменений не только его биоты, но и, что более существенно, геомагнитной среды, в результате чего к 4-й стадии дигрессии она достигает такого состояния, при котором фитоценоз утрачивает способность к восстановлению древостоя. Исследования по проблеме воздействия рекреационных нагрузок на лесные экосистемы проводились в роща Баума. Большое количество баз отдыха, разнообразные ландшафты рекреационных территорий роща Баума привлекают большое количество горожан.

*Целью* исследования является закономерности трансформации напочвенного покрова и оценка его состояния на рекреационных территориях рощи Баума.

*Задачи* исследования: исследовать динамику развития напочвенного покрова растительных сообществ рощи Баума в условиях воздействия рекреационной нагрузки; разработать комплексную шкалу балльной оценки напочвенного покрова растительных сообществ рощи Баума.

#### **Объекты и методы исследования**

При изучении влияния рекреационных нагрузок на растительный покров учитывали:

- 1) посещаемость растительных группировок людьми — постоянный и временный отдых;
- 2) количество единиц автотранспорта (в сутки);
- 4) спортивные мероприятия (спортивные игры).

В качестве базового метода расчета измерения рекреационных нагрузок были взяты: выборочный метод и метод моментных наблюдений [6]. В качестве объектов наблюдений брали пробные площади (1 га) в количестве 4-ех, с преобладанием определенного вида отдыха. Суть наблюдений состоит в том, что на пробной площади фиксировали численность отдыхающих в момент учета, данные заносили в специальную ведомость. В связи с тем, что число отдыхающих на одном и том же участке варьирует в течение суток, недели, а также меняются по мере других обстоятельств, учеты выполнялись следующим образом: суточные учеты проводили в течение 1 ч утром, дважды днем и вечером (с 9 до 10 ч, с 12 до 13 ч и с 16 до 17, с 19 до 20 ч), 3 раз в месяц (ежеквартально). Данные наблюдений заносились в специальную ведомость. Данные в будни и выходные дни фиксировали отдельно. Затем вычисляли среднее значение и умножали на 10 (количество часов светового дня, в течение которого отдыхающие проходят по территории отдыха). Таким образом, рекреационная нагрузка составляет величину в 10 раз большую, чем рассчитанная в чел.-ч/га. Затем вычисляли примерное среднее количество посещений за месяц. Рекреационную нагрузку в день (N) определяли по формуле:

$$N = M \times 10,$$

где M - количество отдыхающих как среднеарифметическое (за 4 учетных часа);

10 - общее количество часов светового дня.

За месяц  $M = N \times 23$  (для будних дней);  $M = N \times 8$  (для выходных дней). Затем полученные величины складывали и получали величину рекреационной нагрузки в месяц. Суммарную площадь сбитых площадей (Sd) выражали в процентах от общей площади территории объекта.

#### **Результаты и их обсуждение**

Вытаптывание является важным фактором воздействия на напочвенный покров и ведет к существенному изменению условий местообитания, вызывая полное исчезновение специфической внутренней среды сообщества [7]. Пик рекреационных нагрузок приходится на летние месяцы — июль и август. В среднем за 1 ч на 1 га рекреационная нагрузка составляет 38 чел. Умножая это значение на 10 ч светового дня, получаем среднее значение — 380 чел.-га/день. Таким образом, в месяц величина рекреационной нагрузки составляет в среднем 11000 посещений, на некоторых участках число посещений в этот период — до 18000 в месяц. В среднем за поток (12 дней) отдыхает 260 чел., т.е. 1000 чел. за июль и август. Такое количество отдыхающих, проживающих на ограниченной площади, оказывает отрицательное воздействие

на состояние растительности. Многие растения имеют следы физических повреждений. В основном исследуемая территория представляет собой пространство с переуплотненной почвой и редкими растениями, растущими у корней деревьев и в стороне от основных пешеходных дорожек. Параллельно с вытаптыванием наблюдается замусоривание рекреационных территорий, усугубляющий этот процесс. Это существенно снижает эстетическую ценность территории. Наибольшее число баз отдыха сосредоточено в сосняке брусничном А2. Проведенные исследования показали, что этот тип леса является наиболее привлекательным для отдыхающих, преобладают насаждения I-II классов бонитета с меньшей полнотой, хорошими условиями освещенности, проходимостью и санитарным состоянием: воздух чистый, хорошая вентиляция, отсутствие паразитов, густых зарослей, наличие ароматических запахов. На втором месте по привлекательности сосняк травяной разнотравный с дубом и на третьем месте — сосняк дубово-снытьевый в связи с тем, что отмечаются меньшая освещенность и вентиляция, достаточно густой подлесок, меньшая проходимость, большая влажность воздуха. Живой напочвенный покров (*Livingsoilcover; Groundvegetation*) травянистые растения, мхи и полукустарники, произрастающие под пологом леса [8]. Поскольку напочвенный покров является главным индикатором состояния сообщества, именно он был выбран в качестве основного критерия оценки. Напочвенный покров, являющийся одним из основных компонентов биогеоценоза, служит индикатором состояния условий среды. Исходя из величин рекреационных нагрузок, была составлена шкала оценки напочвенного покрова сообществ, находящихся под воздействием интенсивной рекреационной нагрузки.

#### **Заключение**

В сосняке дубово-снытьевом сохраняется наибольшее количество лесных видов, луговые и сорные виды представлены менее значительно, чем в других типах леса. Соотношение лесных, луговых и сорных видов составляет 17:11:8, сосняке-брусничнике 14:9:11, в сосняке разнотравном — 9:16:10. Напочвенный покров сосняка брусничного и травяного разнотравного близок к деградации, напочвенные сообщества сосняка дубово-снытьевского изменены в меньшей степени. Таким образом, в сосняке дубово-снытьевом сохраняются сообщества более устойчивые к комплексу внешних факторов, по сравнению с другими типами леса и наиболее приближенные к контрольным условиям.

Составленная шкала балльной оценки напочвенного покрова для лесных сообществ позволила оценить состояние напочвенного покрова в местах с отсутствием рекреационной нагрузки и в местах с интенсивной рекреационной нагрузкой. На основании оценки с применением этой шкалы было выявлено, что исследуемые сообщества в местах массового отдыха сильно изменены. Это происходит под воздействием рекреационных нагрузок. Результаты исследований показали, что рекреационная нагрузка приводит к увеличению площади троп и прогалин, снижению сомкнутости древостоя, следовательно, к изменению микроклимата, увеличению интенсивности солнечной радиации и амплитуды температур, уменьшается влажность воздуха, ухудшаются водно-физические свойства почв. В результате происходит постепенная замена разнообразных коренных сообществ однотипными производными. Травяной покров под пологом леса приобретает черты олуговения. На определенном этапе наблюдается увеличение количества видов за счет внедрения луговых и сорных видов нехарактерных для исходных условий лесопроизрастания. Затем происходит упрощение сообществ по количеству видов и экземпляров, другими словами, — снижение биоразнообразия. На основании проведенных исследований можно сделать следующий вывод: напочвенный покров, являющийся одним из основных компонентов биогеоценоза, служит индикатором состояния условий среды. Таким образом, воздействие рекреационных факторов сильно изменяет тенденции естественной динамики лесных сообществ роща Баума.

*Литература*

- 1 Таран А.И., Спиридонов В.Н. Устойчивость рекреационных лесов. — Новосибирск: Наука, 1977. -№ 8 (58). -С. 179 -187.
- 2 Реймерс Н.Ф. Природопользование: учеб. пособие. — М.: Мысль, 1990.
- 3 Чижова В.П. Рекреационные нагрузки в зонах отдыха. — М.: Наука, 1977. -№ 8 (58). -С. 115 -120.
- 4 Под общей редакцией Р.В. Ященко «Заповедники Средней Азии и Казахстана» Выпуск 1, материалы проекта МСОП, Almaty, Kazakhstan, 2006.№ 7 (58). -С. 250 -267.
- 5 Красная книга Казахской ССР. Часть 2. Растения. Издательство "Наука", 1981 ;. -№ 11 (77). -С. 258 -265с.
- 6 Иващенко А.А. Растительный мир Казахстана/ - Алматы, 2004.-176с.
- 7 Nylund L., Nylund M., Kellomaki S., Naaranen A. Radial growth of Scots pine and soil conditions at some camping sites in southern Finland // Silva Fennica. — 1980. — Vol. 14 (1).— P. 1-13. -№ 5 (38). -С.120-136.
- 8 Абдуллина С.А., Иващенко А.А. Дополнение к списку «Список и сосудистых растений Казахстана»\ Материалы международной научной конференций, посвященной 70-летию Института ботаники фитоинтодукций. – Алматы. .6-10. -№ 11 (77). -С. 2002-2015.
- 9 Рысин Л.П., Маргус М.М. Рекреационное лесопользование в СССР. — М.: Наука, 1983. . -№ 7 (58). -С. 128 -130.

УДК 616.36-002

**ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ПОЛУЧЕНИЯ СГУЩЕННОГО КУМЫСА**

Жумабаева А.Н.<sup>1</sup>, Токтамыс А.Б.<sup>2</sup>, Толеген Г.А.<sup>2</sup>, Мырзахметова Б.Б.<sup>2</sup>, Тунгушбаева З.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> КазНПУ им.Абая, г. Алматы

<sup>2</sup> НУО «КРМУ» Молекулярная биология с курсами общей химии и биохимии, Казахстан, г.Алматы  
e-mail: gtolegenkz@mail.ru

**Аннотация.** В данной работе представлены результаты исследований по разработке получению сгущенного кисломолочного напитка кумыса, который был получен из кобыльего молока, в результате молочнокислого брожения. Разработка технологии сгущенного кумыса относится к молочной промышленности, а именно к способам получения консервированного натурального кумыса из кобыльего молока. Предлагаемый способ позволяет получить кумыс, способный длительно храниться - до 10 - месяцев при температуре 10-18 °С. Технология приготовления кумыса включает в себя брожение кобыльего молока кумысной закваской, перемешивание, созревание в течение 8-12 часов при температуре 26-28° С, выдерживание охлажденного кумыса в течение 9-14 часов.

В данной статье будет рассмотрены методы получения сгущенного кумыса, как один из древних методов консервирования, который позволяет увеличить срок хранения продукта, а также сохранить питательные вещества.

**Ключевые слова:** кумыс, сгущенный кумыс, молочная смесь, молочнокислая и спиртовая ферментация.

Казахстан является Родиной молочного коневодства и кумыса. Еще в третьем веке до нашей эры скифы изготавливали кумыс из кобыльего молока. Кумыс для кочевников был и пищей, и напитком.

На целебные свойства кобыльего молока и кумыса стали обращать внимание с начала XI века после работы среднеазиатского ученого-врача Ибн Сина (Авиценна), который показал, что при язве мочеиспускательного канала хорошо помогает кобылье молоко, а мочекаменную болезнь он излечил при помощи кумыса.

Современная и народная медицина использует кумыс для эффективного лечения туберкулеза легких. Он положительные результаты дает при желудочно-кишечных заболеваниях, показан при болезнях печени, почек, при анемии, авитаминозах, рекомендуется для укрепления иммунной и нервной систем человека. Кумыс обновляет клетки и ткани организма, омолаживает человека. Об этом свидетельствуют работы выдающихся ученых многих стран: Н.В. Постникова, С.П. Боткина, Н.В. Склифосовского, В.А. Манасейна, Н.А. Крамова, П.Щ. Берлина, М.Н. Карнаухова, С.В. Вишневого, А.В. Сигриста, З.Ш. Загидуллина, М.Г. Курамшиной, С.В. Базановой, Т.Ш. Шарманова, А.Н. Хасенова, А.К. Жангабылова, Р.Х. Кадыровой и многих других [1].

Уникальность оздоровительно-лечебного действия кумыса заключается в химическом составе кобыльего молока и в веществах, которые образуются при ферментации молока с помощью бактериальной и дрожжевой закваски. В кобыльем молоке содержатся биологически активные белки лактоферрин, ангиогенин, иммуноглобулины, лизоцим, незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты, оно богато аскорбиновой кислотой. Лактоферрин обладает антиконцерогенными, антивирусными, антибактериальными, иммуностимулирующими свойствами. Ангиогенин способствует росту кровеносных сосудов, играет большую роль при инфаркте миокарда и инсульте. Эссенциальные жирные кислоты являются предшественниками эйкозаноидов, регуляторов химических процессов в клетках. Высока функция аскорбиновой кислоты в оздоровительных действиях кумыса [1-2].

Целью исследования является разработка технологии получения сгущенного кумыса с повышенным содержанием белков, липидов, микроэлементов и других биологически ценных компонентов кобыльего молока и продуктов ферментации кумыса. Сгущенный кумыс нами был получен двумя способами: составлением композиции из сухого кобыльего молока и вакуум сгущением молока с последующей ферментацией молочной смеси с помощью кумысной закваски [2].

Сгущенный кумыс – это паста, состоящая из концентрированных питательных и целебных веществ, предназначенная как профилактическое, оздоровительное и лечебное средство.

В таблице 1 приведены химический состав и некоторые физико-химические свойства сгущенного кумыса.

Таблица 1. Химический состав и свойства сгущенного кумыса, г/100 г, n= 3

Показатели	Композиция из сухого молока, М +m	Вакуум сгущение молока М +m
1.Массовая доля сухих веществ	31,2 +1,90	33,6 +1,50
2.Массовая доля влаги	68,8 +1,85	64,4 +2,00
3.Массовая доля белков	12,8 +0,90	13,5 +1,05
4.Массовая доля жира	7,1 +1,00	8,0 +0,95
5.Массовая доля этанола	2,6 +0,05	2,5 +0,05
6.Титруемая кислотность	130 +4,00	135 +2,50
7.Активная кислотность, рН	3,9	3,9

Как видно из табличных материалов, оба вида сгущенного кумыса содержат почти одинаковое количество сухих веществ ,31,2 +1,90 и 33,6 +1,50 г в 100г продукта. По содержанию белков и жира они резко не отличаются друг от друга. Продукты обладали одинаковыми органолептическими качествами: [3-5].

- Вкус – кисловатый, слегка со сладковатым привкусом
- Запах – кислый, характерный для кумыса

- Цвет- молочно- белый
- Консистенция – однородная густоватая жидкость
- Газообразование – среднее

*Способы приготовления сгущенного кумыса.*

*1. Из композиции сухого молока.*

Пример. Взять 700г сухого молока, добавить 1,3л прокипяченной и охлажденной до 30<sup>0</sup> С воды. Растворить путем перемешивания и внести 400 мл кумысной закваски, состоящей из молочнокислых бактерий и молочных дрожжей. Молочная смесь хорошо перешивается и оставляется для ферментации на 10 часов при температуре 28-30<sup>0</sup> С. Затем вновь перемешивается для усиления спиртового брожения. После этого оставляется для созревания при температуре 14-16<sup>0</sup> С, при двукратном перемешивании, на 20-24 часа до достижения кислотности 130-140<sup>0</sup> Т. Показатели сгущенного кумыса приведены в таблице.

*2. Приготовление сгущенного кумыса из вакуум сгущенного молока.*

Цельное кобылье молоко концентрировалось в вакуум установке до содержания сухих веществ 42-46%. Пример. Взять 5,0 кг кобыльего молока, выпарить влагу при разрежении как указано в разделе 2,8. Выход сгущенного молока составляет 0,85 кг, в него вносится 170 мл кумысной закваски, хорошо перемешивается. Молочная смесь оставляется для молочнокислой и спиртовой ферментации в условиях, указанных в первом способе получения сгущенного кумыса [3-5].

Таким образом получен сгущенный кумыс, представляющий собой концентрат белков, липидов, микроэлементов, органических кислот, этанола и других целебных компонентов кобыльего молока и созревшего кумыса. Он представляет собой пасту с приятным кисловатым и сладковатым вкусом. Паста может быть использована как оздоровительный и лечебный продукт.

### *Литература*

- 1 Сеитов З.С., Дуйсенбаев К.И., Хасенов А.Н., Черепанова В.П., Белокобыленко В.Т. Кумыс. Шубат //Алма-Ата. Кайнар. 1979. С. 2002.
- 2 Сеитов З.С., Токтамысова А.Б. Новые технологии кумыса // Материалы 3-го Международного Беремжановского химического съезда. Усть-Каменогорск, 2001, с. 224-226.
- 3 Предварительный патент РК №3750, 1996. Способ получения сухого порошка из молока. Сеитов З.С.
- 4 Предварительный патент РК №3819, 1996. Способ получения сухого порошка из молока. Сеитов З.С.
- 5 Предварительный патент РК №112.74.2004. Способ определения сывороточных белков молока. Сеитов З.С., Ахметова Ш.С., Токтамысова А.Б, Сыманова К.Ж., Сайдулдина А.А., Конысбаева Г.С., Искакова Н.
- 6 Токтамысова А.Б., Сеитов З.С. Состав и свойства целебных кумысных концентратов // Материалы Второй Международной ветеринарной конгресс, Алматы, 2003, с. 271-275.



УДК 68.05.45

## МИКРООРГАНИЗМЕННЫЙ СОСТАВ ПОЧВ ПРИБЕРЕЖНОЙ ЗОНЫ КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Д.Т. Идрисова, А.С. Тапалова, С.Ж. Ибадуллаева  
Кызылординский университет имени Коркыт Ата, г. Кызылорда  
e-mail: salt\_i@mail.ru

**Аннотация.** В данной статье представлена информация по проблемам загрязнения почвы нефтепродуктами, что неблагоприятно влияет на ее экологическое состояние. Показаны особенности состояния почв Каспийского региона, как одного из ведущих нефтедобывающих территорий.

Представлены результаты исследований численности бактерий рода *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Acinetobacter* и бактерий рода *Bacillus*.

**Ключевые слова:** *загрязнение, нефтепродукты, Каспийское море, микроорганизмы.*

Одной из серьезных проблем охраны окружающей среды при разработке нефтяных месторождений является ликвидация последствий нефтяного загрязнения почвы. Загрязнение почвы нефтепродуктами нарушает ее экологическое состояние и деформирует естественную структуру биогеоценозов.

Устранение разливов нефти позволяет значительно улучшить экологическую обстановку в районах непосредственно прилегающих к технологическим объектам [1].

Площади загрязненных земель продолжают увеличиваться в результате аварийных разливов нефти. Это приводит к необратимым изменениям морфологического состава, физико-химических и микробиологических свойств почвенного покрова [2,3].

Дальнейшее накопление замазученных грунтов недопустимо и требует незамедлительного проведения рекультивационных мероприятий по восстановлению плодородия земель. Существующие технологии восстановления нефтезагрязненных земель, а именно механические, физико-химические и термические, не отвечают требованиям эколого-экономической эффективности и могут нанести долговременный вред экосистеме.

Экологическое состояние Каспийского моря и прилегающих территорий находится под угрозой дестабилизации. Поэтому крайне важно наличие объективной информации о состоянии биологической среды водоема, что создаст возможность для принятия действенных мер по сохранению и восполнению биоресурсов Каспийского моря. Получение количественной информации о пространственно-временной изменчивости основных групп гетеротрофного бактерио-, альго- и зоопланктона Каспийского шельфа в районах нефтедобычи и прилегающих регионах актуально и позволит получить базу данных для биологического мониторинга нефтезагрязненных морских вод [4-5].

Таким образом, в нефтедобывающих регионах Каспийского шельфа, где происходит загрязнение нефтью поверхностных вод и донных отложений, проблема разработки технологий их восстановления весьма актуальна.

Пробы воды и донных отложений были отобраны согласно ГОСТ 17.1.5.01 – 80 [6]. Определение численности физиологических групп микроорганизмов в отобранных пробах проводили с использованием стандартного метода Коха. Для определения численности гетеротрофных бактерий делали высев исходной воды из разведения 1:10 на поверхность плотной питательной среды РПА, а из донных отложений – из разведений 1:10, 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup>, посев почвенной суспензии – из разведений 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup> и 1:10<sup>4</sup>. Чашки Петри выдерживали в течение 3-4 суток в термостате при температуре 28-30°C. По окончании термостатирования производили подсчет колоний микроорганизмов с учетом разведений.

В результате проведенных маршрутных полевых исследований, нами были отобраны пробы почв. В ходе исследований нами было проведено изучение состава микробоценоза прибрежных почв зоны Северо-Восточного Прикаспия (таблица 1).

Таблица 1. Определение численности микроорганизмов в почве

Точки отбора	Численность микроорганизмов, КОЕ/г				
	Гетеротрофные бактерии	Спорообразующие микроорганизмы	Мицелиальные грибы	Актиномицеты	УОМ, НВЧ кл/мл
П/т1	$(1,1 \pm 1,2) \times 10^7$	$(4 \pm 1,2) \times 10^4$	$(4,6 \pm 1,6) \times 10^5$	$(5,5 \pm 2,3) \times 10^5$	$3 \times 10^5$
П/т2	$(9,9 \pm 1,1) \times 10^5$	$(5,0 \pm 1,9) \times 10^4$	$(5,4 \pm 2,2) \times 10^5$	$(5,6 \pm 2,4) \times 10^5$	$70 \times 10^5$
П/т3	$(1,2 \pm 1,2) \times 10^7$	$(4,6 \pm 1,6) \times 10^4$	$(5,4 \pm 2,2) \times 10^5$	$(4,8 \pm 1,7) \times 10^5$	$2 \times 10^5$
П/т4	$(1,5 \pm 1,8) \times 10^7$	$(4,2 \pm 1,3) \times 10^5$	$(4,6 \pm 1,6) \times 10^5$	$(6,9 \pm 3,6) \times 10^5$	$2 \times 10^5$
П/т5	$(1,6 \pm 2,0) \times 10^7$	$(4,7 \pm 1,6) \times 10^5$	$(3,9 \pm 1,1) \times 10^5$	$(8,2 \pm 5,1) \times 10^5$	$5 \times 10^5$

В ходе проведенных исследований почвенной микрофлоры было выявлено, что также наиболее многочисленной группой были гетеротрофные бактерии. Численность споробразующих микроорганизмов и мицелиальных грибов, так же как и в донных отложениях, была на один-два порядка меньше. Количество актиномицетов и углеводородокисляющих микроорганизмов во всех пробах было на одном уровне и составляло  $10^5$  КОЕ/мл.

Также результаты исследований показали, что в образцах почвы присутствовало большое количество бактерий рода *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Acinetobacter* с большим преобладанием представителей споробразующих бактерий рода *Bacillus* (рисунок 1).

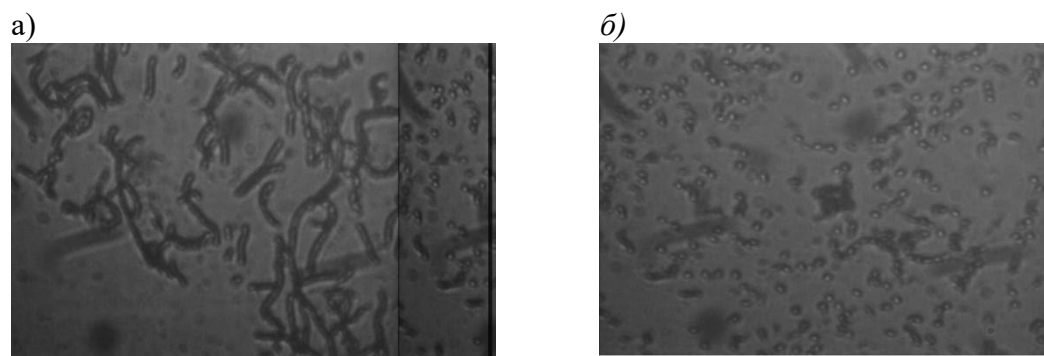
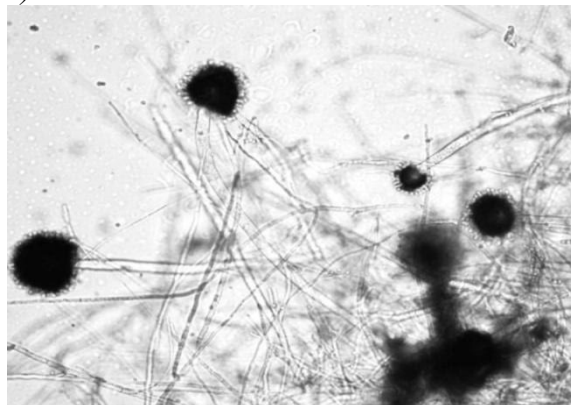


Рисунок 1. Морфология бактерий рода (а) *Bacillus* (б) *Pseudomonas*

Одним из задач проведенных исследований был процесс идентификации выделенных мицелиальных грибов. При этом в северной зоне, которая отличается слабыми минерализационными процессами, отмечено наличие грибов родов *Penicillium* и *Mucor*, размножающиеся на субстратах с большим количеством свежих растительных остатков. По мере продвижения к югу их вытесняют представители рода *Aspergillus* (рисунок

2) Также встречались грибы рода *Fusarium*.

а)



б)

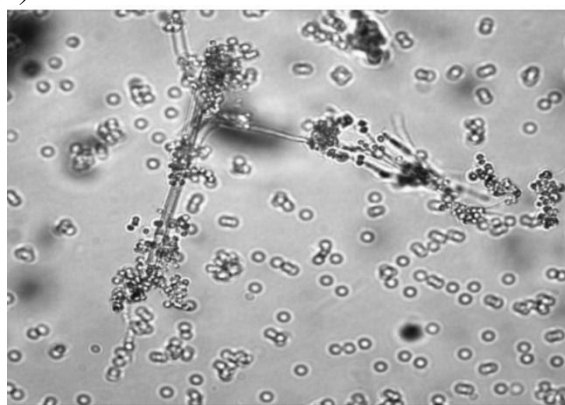


Рисунок 2. Морфология грибов родов (а) *Aspergillus* и(б) *Penicillium*

По морфологическим признакам были идентифицированы выделенные почвенные актиномицеты, наиболее распространенными из которых оказались актиномицеты серии *Ruber, Albocoloratus, Flavus, Micromonospora*.

По результатам идентификации гетеротрофных бактерий нами обнаружено, что в пробах присутствовали представители родов *Pseudomonas, Acetobacter, Acinetobacter* спорообразующие бактерии рода *Bacillus*. По результатам идентификации мицелиальных грибов, наибольшее их количество отнесено к представителям рода *Penicillium* и *Mucor*. Из исследуемых актиномицетов наибольшее количество относилось к серии *Albocoloratus*.

Таким образом, по результатам проведенных исследований установлено, что во всех отобранных пробах прибрежной почвы присутствовали все изучаемые физиологические группы микроорганизмов. Доминирующими были гетеротрофные бактерии. Высокая численность микроорганизмов в этот вегетационный период объясняется благоприятным температурным режимом и наличием достаточного количества органического вещества в исследуемых биоценозах. Необходимо отметить, что согласно результатам исследования, численности всех микробных сообществ значительно изменялись в зависимости от сезона года. На основании проведенного исследования можно утверждать, что состояние микробиоценоза прибрежной зоны Каспийского моря оценивается относительным постоянством. В современных условиях оптимальной стратегией сохранения биологических ресурсов, и в целом, природы Каспия, подвергаемому комплексному антропогенному воздействию, может быть только минимизация объемов поступления загрязняющих веществ в море и своевременный эффективный мониторинг.

### Литература

- 1 Акпамбетова К.М. Геоморфология аридных территорий Казахстана. –Караганда: КарГУ.-2002.- 112 с.
- 2 Акпамбетова К.М. Экологические последствия разработок месторождений полезных ископаемых на окружающую среду // Мат-лы международной научно-практической конференции: Актуальные проблемы здоровья человека и формирование среды обитания. – Караганда. - 2002. 335 с.
- 3 Аманниязов К.Н. Каспийское море. Алматы. - 1999.- 109с.
- 4 Чибилев А.А. Дорога к Каспию. Алма-Ата. – Кайнар. 1988.- 240с.
- 5 Чигаркин А.В. Освоение пустынь Казахстана. Алма-Ата. - 1984.-163с.
- 6 Пробы воды и донных отложений были отобраны согласно ГОСТ 17.1.5.01 – 80.

ӘОЖ 604.2

## ТҰЗДЫ ЖӘНЕ ӨСІМДІК ШИКІЗАТТАРЫН КОСМЕТОЛОГИЯЛЫҚ ӨНІМ АЛУДА ПАЙДАЛАНУ АРТЫҚШЫЛЫҚТАРЫН ЗЕРТТЕУ

Исаева А.У.<sup>1\*</sup>, Леска Б.<sup>2</sup>, Абубакирова А.А.<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup>Шымкент университеті, Шымкент қ.

<sup>2</sup>А. Мицкевич атындағы мемлекеттік университет, Познань қаласы, Польша

<sup>3</sup>М.Әуезов атындағы ОҚУ, Шымкент қ.

e-mail: akissayeva@mail.ru

**Аннотация.** Бұл зерттеу жұмысымыз Қазақстанда косметологиялық өнімдердің ассортиментін арттыру мақсатында, отандық тұзды шикізаттармен Қазақстанның оңтүстігінде өсетін келесі өсімдіктердің: Дәрмене (*Artemisia cina*), Кәдімгі түймешетен (*Tanacetum vulgare*), Кәдімгі мия (*Glycyrrhiza glabra*), Құс таран (*Polygonum aviculare*), Шалғындық сәлбен (*Salvia pratensis*), тасшөбінің (*Thymus*) шикізаттық қорына сай, адамның терісін емдеуші және терінің құрылымдық қасиетін жақсартушы косметологиялық өнімдер алудың тиімді әдістерін зерттеуге арналады.

**Кілт сөздер:** тұзды көлдер, тұзды шикізат, өсімдік шикізаты, балшық, косметологиялық өнімдер.

### Кіріспе

Соңғы жылдары құрамы табиғи компоненттерге бай косметологиялық өнімдерге деген сұраныс күн артып өсуде [1]. Әсіресе, косметологиялық өнім құрамында тері жасушасын ультракүлгін сәулелерден қорғайтын тотығуды болдырмайтын, стреске қарсы әрекетті, ерте қартаюды болдырмауға қабілетті антиоксиданттар: фенолды қосылыстардың бірнеше кластары, флаваноидтар, алколоидтар, липидтер және т.б. болуы өте маңызды [2]. Сондықтан да, биологиялық активті қосылыс ретінде өсімдік экстрактын, тұзды қосылыстарды косметологиялық өнімдерді алуда пайдалану барысын зерттеу өзекті болып отыр.

**Жұмыстың мақсаты.** Қазақстанның тұзды және өсімдік шикізаттарынан косметологиялық өнім алудың оңтайлы жағдайларын зерттеу

Зерттеуде Жақсықылыш және Бұғажайлы көлдерінің шикізаттары, балшықтар, Қазақстанның оңтүстігінде өсетін өсімдіктер зерттеу нысаны ретінде пайдаланылды.

**Дәрілік өсімдіктер:**

1. Дәрмене (*Artemisia cina*)
2. Кәдімгі түймешетен (*Tanacetum vulgare*)
3. Кәдімгі мия (*Glycyrrhiza glabra*)
4. Құс таран (*Polygonum aviculare*)
5. Шалғындық сәлбен (*Salvia stepposa* Schost)
6. Кәдімгі тасшөбі (*Thymus*)

Зерттеу барысында осы өсімдіктердің өсу жағдайлары мен Қазақстанның оңтүстігінде таралуына шолу жасалды және өсімдіктердің бойында биологиялық белсенді компоненттердің мерзімге байланысты жинақталуы, оларды шикізат ретінде жинау және сақтау қатаң талаптарға сай орындалды [3].

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Кесте 1. Дәрілік өсімдіктердің сипаттамалары мен косметологиялық өнімдердің шикізаты ретінде пайдалану

Өсімдік атауы	Биіктігі ,см	Өсетін орны немесе таралуы	Пайдаланатын бөлігі	Белсенді заттар	Жинау мерзімі	Емдік мақсатта қолданылуы	Косметологиялық өнім алуға қолдану
Қызылмия	300	Жазықта Шөлейтте Далалы шалғында Қоңыржа климатта	Тамыры жемісі гүлі	Органикалық қышқылдар глициризин, фенокарбон кумарин, флавоноид, илегіш заттар, жоғарғы алифатты көмірсутектер және спирттер	Қыркүйек қазан	Асқазан өт жолдары	Бетті ылғалдандырушы маска, ауыз қуысын шаюға арналған қоспа, емдік ванна
Тасшөп	12-13	Аласа тау жоталарда орманды далалы аймақтарда	Жапырағы, сабағы, жемісі	Ілік заттар, шайыр флаваноидтар, әртүрлі қышқылдар, эфир майы		Бүйрек, қуық ауруларын	Беттік құрылымын жақсартуға арналған скраб, сергітуге арналған ванналық қоспа
Түймешетен	30-150	Орманды, далалы, кейде сортаң топырақты жерлерде төбешік баурайларда	жапырағы, сабағы	Камфор май, алколоидтар, илегіш заттар	Шілде қыркүйек	Бас ауруларын, ревматизмді, құрттардан асқазан ауруларын емдеуде	Терінің ылғалдандыруға арналған ванналық құрам, теріні нәрлендіруші маска
Шалғындық сәлбен	20-150	Тау шатқалдарында өседі	Жапырағы, сабағы	Эфир майлары, флаваноидтар, илік заттар, сальвин, урсол, линоленді хлорогенді қышқылдар	Мамыр айынан қыркүйек айы	Жоғары тыныс ал мүшелірін, қабынуға қарсы, ауруды басатын, қан тоқтатушы, нерв жүйесін беріктігін арттырады, қан диабетін II түрінде қанттың мөлшерін тұрақтандырушы, қақырық шығарушы	Ауыз қуысын шаюға арналған шайынды қоспа, емдік мақсаттағы ванналық құрам
Адыраспан	30-80	Құрғақ жайылымдарда,	Жапырағы, сабағы, жемісі	Гермин, гермамин, пеганин,	Маусым,	Жүрек жұмысын жақсартыды,	Теріні емдеуге бағытталған

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

		өзендердің құмды жағалуларында		хинизолин, индол т.б алколоидтар	қыркүйек айы	қан қысымн төмендетеді, астманы, нерв жүйесін емдеуде қолданылады	ванналық құрам, ауыс қуысын шаюға арналған қоспа
Құстаран	60	Жазық алаңқайларда, арықтың жағалауларында, құрғақ жайылымдарда	Жапырағы, сабағы	Авикулярин, кверцитин, аскорбин қышқылы, К.Е витаминдері, каротин, кремний қышқылы, шайыр, илік заттар	Маусым, тамыз	Қабынуға қарсы, қан ұйытуды, асқазан жараларын емдеуде. Қан қысымын түсіруде жиі пайдаланады	Косметологиялық мақсаттағы ванналық құрам, терінің құрылымын жақсартушы маска, скраб

Жоғарыдағы кестеде келтірілген бағалы компоненттерге бай өсімдік шикізаттарын, Қазақстанның тұзды көлдерінің шикізаттарымен құрмалау косметологиялық жаңа өнімдер алуға арзан шикізат көзі бола алады.

Осыған орай жүргізілген ізденістер нәтижесінде, қазір ауыз қуысын шаюға арналған қоспа, терінің құрылымын жақсартуға бағытталған түрлі ванналық құрамдар, маска және скраб дайындалды. Құнды компоненттеріне байланысты олардың құрамы натқыланып тиімдісі таңдалды.

Кесте 2. Табиғи шикізаттармен құрмаланған кейбір косметологиялық өнімдердің негізгі құрамы

№	Өнім	Өсімдіктер Құрғақ эктстракт масса қатынасында%:						Тұзды шикізаттар	
		Қызыл мия	тасшөп	түймешетен	Адыраспан	Шалғындық сәлбен	құстаран	тұз	балшық
1	Сауықтырушы ваннаға арналған құрам	0,08-0,2	0,09-0,1	0,09-0,2	0,09-0,2	0,09-0,1	0,08-0,2	99,03 - 98,00	-
2	Сергіту ваннаға арналған құрам	0,01-0,02	0,05 - 0,1	0,09-0,2;	-	-	0,05-0,3;	99,30 - 99,28	-
3	нәрлендендіруші ваннаға арналған құрам	0,04-0,5	0,05 - 0,4	-	-	-	0,01-0,5	98,7- 98,20 .	-
4	Косметикалық мақсаттағы ваннаға арналған құрам	0,05 - 0,1	0,05 - 0,1	-	-	0,03-0,1	-	97,81 - 97,18 .	-
5	Ауыз қуысын шаюға арналған қоспа	0,1-0,2	0,15-0,25	-	0,15-0,25	0,7-0,75	-	1,5- 2,5	-
6	Ылғалдандырушы маска	0,5-0,65	0,5-0,65	-	0,3-0,5	0,5-0,65	-	-	50
7	Емдік скраб	0,1-0,2	0,1-0,2	0,1-0,2	0,1-0,2	0,1-0,2	0,1-0,2		70

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

Соңғы жылдары байқағанымыздай, косметикалық тауарларға деген сұраныс қарқынды түрде өсуі мен қатар, оларға қойылатын талаптар да артып жатыр[4]. Косметикалық тауарлар сыртқы келбетке әдемілік келбетпен қатар теріні емдеп, сауықтырады, сондықтан үлкен гигиеналық, эстетикалық және психологиялық маңызды деп айта аламыз[5,6].

Сондықтанда, біз зерттеу жұмысымызды тек өнім алудың тиімді үрдістерін қарастырумен шектеп қана қоймай, өнімдердің сапасын бағалау бойынша да жұмыстармен толықтырдық. Төмендегі кестеде (кесте 3) косметологиялық өнімдерге ерікті азаматтардың қатысуымен жүргізілген, өнімнің теріге аллергиялық қасиеті және терінің жағдайын жақсартуға әсері бойынша зерттеу нәтижелері келтірілді.

Кесте 3. Косметологиялық өнімдердің аллергиялық қасиеттері

№	Өз еркімен зерттеуге қатысқан адамдар саны	Қолдану жағдайлары	Өнімнің мөлшері,г/л	Терінің жағдайының жақсаруы	Өз еркімен қатысқандар да аллергиялық сипаттың орын алуы
1	10	Сырттай	5	10	0
2	10	Сырттай	5	10	0
3	10	Сырттай	5	10	0
4	10	Сырттай	5	8	0
5	10	Сырттай	2	10	0
6	10	Сырттай	2	10	0
7	10	Сырттай	2	10	0

### Қорытынды

Қазақстанның бағалы компоненттерге бай өсімдік шикізаттарының мол қоры, сол сияқты Жақсықылыш және Бұғажайлы көлдерінің органикалық минералдарға бай тұзды шикізаттары жаңа заман талабына сай, сапасы жоғары жаңа бір косметологиялық өнімдер саласын қалыптастыруда арзан шикізат бола алатынына зерттеу нәтижесінде көз жеткіздік, бұл өз кезегінде әрлік- әдемілік қана емес, теріні емдеуге оң ықпалды өнімдердің тиімді биотехнологиясын құрастыру бойынша жүргізіліп жатқан зерттеулердің маңызын ашып, мақсатын айқындап отыр.

Тұзды шикізаттар мен дәрілік өсімдік негізінде алынған бірқатар косметологиялық өнімдердің аллергиялық қасиеттері бойынша зерттеулер ерікті адамдарға 25-55 жас аралығында білікті дерматолог, косметолог пен жоғары санаттағы стоматолог мамандардың қатысуымен жүргізіліп, алынған қорытындыға сай тұзды шикізат пен өсімдік негізінде алынған өнімдердің 97 % пайызы оң нәтижені көрсетті деп сенімді айта аламыз. Терінің жағдайына әсері бойынша скраб және маска косметологиялық өнімдері Visioscan® VC 98 қондырғысында еріктілердің терілеріне жағып, жағуға дейінгі (А) және кейінгі (Б) TEWL және эпидермистің гидратациясы сияқты көрсеткіші бойынша өзгерістер 5,6 маскалармен 2 скраб үлгісінің өте ылғалданырғыш жоғары қасиетке ие екенін көрсете алды, сонымен қатар Бұл өнімді гипоаллергенді топқа жатқызуға толық мүмкіндік бере алады.

### Әдебиеттер

- 1 Панова О.С. Современная косметология - проблемы, поиски, решения // Научно-практический Журнал «Экспериментальная и клиническая Дерматокосметология», №1, 2012. –С.33
- 2 Евсева, С.Б. Использование природных минеральных солей в современных косметических рецептурах: ассортимент продукции, характеристика сырья и особенности технологии / Евсева С.Б., Сысуев Б.Б. // Фармация и фармакология. - 2016. - №2. -С. 4-25

3 ГОСТ 24027.1-80 Сырье лекарственное растительное. Методы определения подлинности, зараженности амбарными вредителями, измельченности и содержания примесей

4 СанПиН 1.2.681-97. Гигиенические требования к производству и безопасности парфюмерно-косметической продукции.

5 ТР ТС 009/2011. О безопасности парфюмерно-косметической продукции.

6 Панова, О.С. Законодательно-правовые вопросы оценки качества косметической продукции / О.С.Панова //Журнал «Вестник эстетической медицины» №5. Т. 1. 2013. -С. 71-74.

УДК 581.1:574. 632:582.263

### **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД НА ОСНОВЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ CHLORELLA VULGARIS SP BB-2**

Б.К. Заядан, Н.Р. Акмуханова, М.М. Тореханова, А.К. Садвакасова, М.О. Бауенова

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан*

*e-mail: [akmukhanova.nurziya@gmail.com](mailto:akmukhanova.nurziya@gmail.com)*

**Аннотация.** В статье показана возможность использования зеленых микроводорослей для эффективной биологической очистки сточных вод рыбного хозяйства с получением биомассы, которая может применяться в качестве кормовой добавки для рыб в аквакультуре. По результатам исследований было отобрано штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* SP BB-2, который показал повышенную скорость роста на сточных водах рыбного хозяйства. Изучение гидрохимических показателей загрязненной воды после культивирования водорослей показало перспективность применения полученного штамма для очистки воды из рыбных прудов.

**Ключевые слова:** микроводоросли, биологическая очистка, сточная вода, рыбное хозяйство.

Защита водных ресурсов от истощения и загрязнения и их рациональное использование для нужд народного хозяйства одна из наиболее важных проблем, требующих безотлагательного решения. Сейчас во многих странах широко осуществляются мероприятия по охране окружающей среды, в частности по рациональному использованию водных ресурсов. Одним из основных направлений работы по охране водных ресурсов является внедрение новых технологических процессов производства, переход на замкнутые (бессточные) циклы водоснабжения, где очищенные сточные воды не сбрасываются, а многократно используются в технологических процессах [1].

Рыбное хозяйство непосредственно связано с использованием водных ресурсов и предъявляет очень высокие требования к их режиму, количественному и качественному состоянию. Выращивание рыбы в системах с замкнутым водоснабжением является вершиной интенсификации производства, позволяет получать максимальную продукцию с единицы площади или объема рыбоводных емкостей при минимальном потреблении воды. Одной из проблем, возникающих при использовании УЗВ, является постепенное накопление в оборотной воде продуктов жизнедеятельности водных животных в виде органических веществ и производных от них нитратов и фосфатов. Простейший способ их удаления частичная подмена воды в системе, однако в случае дефицита воды эта процедура становится чрезвычайно дорогостоящей. Альтернативным способом, имеющим ряд преимуществ, может стать культивирование микроводорослей. Подобные системы были разработаны и в



некоторых случаях используются в пресноводном рыбоводстве [2], однако возможность применения этого принципа на сегодняшний день очень мало изучена.

Микроводоросли потребляют нитратный азот и фосфаты, углекислый газ, используя их для построения клеток своего тела, выделяют кислород. Это один из наиболее экологичных способов очистки воды. Как известно, микроводоросли за счет фотосинтеза обогащают водную среду кислородом, ускоряя тем самым окислительные процессы и минерализацию органических примесей. Использование активных штаммов микроводорослей в очистке рыбохозяйственных водоемов, предоставляет возможность получения дешевой биомассы микроводорослей, обладающей высокой питательной ценностью для рыб [3].

В этой связи изучение роли микроводоросли в очистке вод замкнутых систем водопользования является одной из актуальнейших проблем сегодняшнего дня.

#### **Материалы и методы исследования**

В качестве объекта для изучения очистительного эффекта микроводорослей использовались штаммы *Chlorella vulgaris* SP BB-2, *Chlorella vulgaris* C-1 и *Chlorella vulgaris* C-2 выделенный из загрязненного водоема и подвергнутый автоселекции на разных загрязненных средах. Для выявления способности микроводоросли расти на загрязнённой воде штаммы культивировали в лабораторных условиях на сточной воде рыбного хозяйства. Микроводоросли предварительно выращивали на питательных средах 04, Тамия в конических колбах объемом 250-1000 мл при освещении лампами дневного света (4000 люкс) и температуре 25-28<sup>0</sup>С. В эксперименте использовался лабораторный микробиореактор объемом 40 л. В опыте использовалась сточная вода рыбохозяйственных водоемов Алматинской области. В качестве контроля использовалась жидкая среда Тамия. Контроль за темпом роста и размножением водорослей в культуре осуществляли на основании учета изменений их численности и биомассы с помощью камеры Горяева [4]. Содержание аммиака и ионов аммония определяли с реактивом Несслера, нитритный азот – с реактивом Грисса, нитраты – с салицилатом натрия [5]. Содержание фосфатов определяли методом Морфи-Райли. Для определения БПК<sub>5</sub> пробы воды инкубировали в темноте при постоянной температуре 20<sup>0</sup>С в течении 6 дней с последующим определением концентрации растворенного в воде кислорода до и после инкубации. Химическое потребление кислорода (ХПК) определяли титриметрическим методом [6].

#### **Результаты исследований и обсуждение**

##### *Рост микроводорослей на модельных сточных водах*

Микроводоросли давно применяются учёными в качестве объекта разнообразных исследований. Для культивирования микроводорослей обычно используют синтетические минеральные среды. Однако при использовании таких сред себестоимость получаемой биомассы оказывается достаточно высокой, поскольку требует использования различных реактивов, их взвешивания, растворения, транспортировки к месту наращивания микроводорослей. Другим способом повышения экономической эффективности представляется выращивание клеток на сточных водах, загрязненных различными соединениями, способными выполнять роль биогенов для микроводорослей [7]. В этой связи актуальна отбор продуктивных штаммов микроводорослей как концентраторов биогенных элементов, содержащихся в сточных водах.

По результатам изучения динамики роста микроводоросли в сточных водах рыбохозяйственного водоема, было установлено (рис.1), что сточные воды рыбных хозяйств могут быть эффективно использованы в качестве питательных сред для накопления клеток микроводорослей.

Исходное количество в начале эксперимента клеток составляло  $0,5 \times 10^6$  кл/мл во всех опытных вариантах. Экспериментальные исследования параметров роста микроводорослей показали, что все штаммы хорошо растут и развиваются при заданных условиях культивирования. Среди исследованных штаммов микроводорослей более продуктивным

штаммам оказалось *Chlorella vulgaris SP BB-2*, коэффициент скорости роста клеток составляет 0.5. В остальных штаммах коэффициент скорости роста составляет *Chlorella vulgaris C 1*- 0.39, *Chlorella vulgaris C 2*- 0.38 (рис. 1).

Наличие органических веществ позволило повысить скорость роста клеток *Chlorella vulgaris SP BB-2* на 20 % по сравнению с стандартной питательной средой Тамия. Необходимо также отметить, что в сравнении с результатами, полученными при культивировании клеток в питательной среде Тамия, получено, что рост клеток микроводорослей *Chlorella vulgaris C-1* и *Chlorella vulgaris C-2* на модельной сточной воде, содержащей органические вещества (опыт), практически не отличался от роста клеток на среде Тамия. Из исследованных штаммов микроводорослей высокую продуктивность показал *Chlorella vulgaris SP BB-2*.

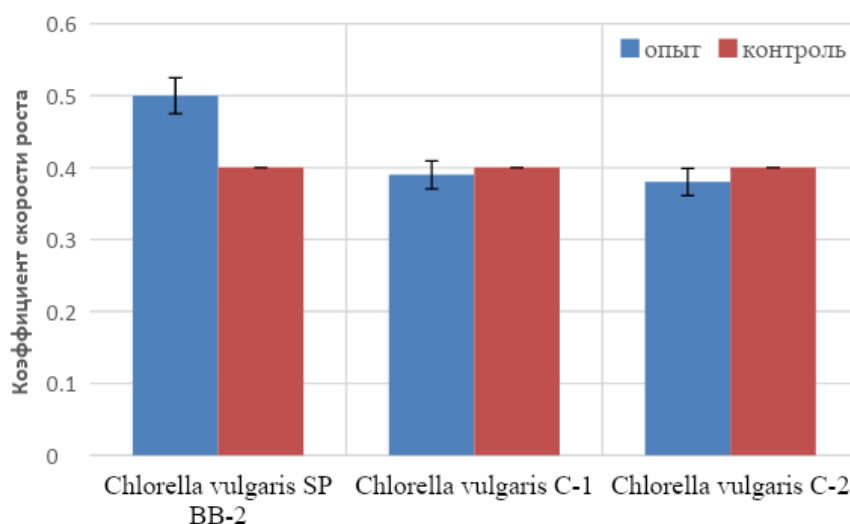


Рисунок 1. Коэффициенты скорости роста штаммов микроводорослей при культивировании в рыбохозяйственных сточных водах

Очистительный эффект сточных вод рыбохозяйственных водоемов при культивировании микроводорослей.

Наряду с высоким содержанием неорганических ионов сточные воды рыбных хозяйств отличаются значительной концентрацией органических загрязнителей. В современных очистных сооружениях интенсивная аэрация сточных вод обеспечивает поступление кислорода, необходимого для окисления органических загрязнителей, регистрируемое как снижение параметров БПК и ХПК, традиционно применяемых при оценке содержания органических загрязнителей в воде [8]. При очистке стоков с использованием фототрофных микроорганизмов кислород выделяется клетками при фотосинтезе, исключая потребность в дополнительной аэрации [9].

Очистительный эффект сточных вод рыбохозяйственных водоемов исследовали с клетками *Chlorella vulgaris SP BB-2*, так как высокую продуктивность на сточных водах показал именно этот штамм.

В условиях эксперимента показатель ХПК при очистке с клетками *Chlorella vulgaris SP BB-2* имел тенденцию к снижению. Также мы определяли показатель, характеризующий степень органического загрязнения водоема и сточных вод - биохимическое потребление кислорода (БПК). В течение всего периода проведения эксперимента наблюдалась аналогичная картина, как и в случае с показателем ХПК.

Содержание взвешенных частиц в условиях эксперимента на протяжении всего периода исследований имела тенденцию к уменьшению, так в первые 2 дня эксперимента наилучшие результаты наблюдались в опытном варианте, количество взвешенных частиц снизилось на 15%, но уже во время следующего отбора проб после 4 дней культивирования показатели

почти выровнялись и составили 56-58% от их первоначального содержания. На момент завершения эксперимента общее снижение содержания взвешенных частиц составило 90%.

Кроме органолептических показателей основной группы при проведении исследований мы обращали внимание и на группу химико-органолептических показателей и pH воды. Во время выращивания микроводорослей в условиях опыта pH воды во все исследуемые периоды составила 7.0-7.9, что соответствует значениям ПДК.

Особое значение при биологической очистке сточных вод имеет содержание азота и фосфора. По результатам наших исследований, показатели азотного обмена имели тенденцию к значительным колебаниям в течение всего периода исследований. Очевидно, это связано с высоким содержанием аммиачного азота в начале эксперимента и его превращением из аммиачной формы в нитритную, а в последствии и нитратную. Об этом свидетельствуют показатели динамики содержания аммиачного азота в воде. Наиболее интенсивно аммиачный азот окислялся в первые 2 дня эксперимента, за этот период разрушалось около трети его общего содержания. В первые дни эксперимента количество нитрат-ионов меняется незначительно. Начиная с 4 суток, концентрация нитратов уменьшается, то есть они практически полностью утилизируются гидробионтами и уже к концу эксперимента нитратов обнаружено не было. Появление окисленных форм азота свидетельствует о глубоком прохождении процесса очистки, ведь их повышение на фоне общего снижения БПК говорит о том, что углеродсодержащие соединения интенсивно окисляются. Итак, по показателям нитратного обмена наблюдается положительная тенденция при использовании для биоочистки микроводорослей. Как показали результаты исследования, потребление фосфатов микроводорослями происходило достаточно быстрыми темпами. На момент завершения эксперимента извлечение фосфатов было примерно, 87%.

Таким образом, как видно из полученных результатов, при альголизации водоёмов с целью их очистки от органо-минеральных загрязнений, в качестве побочного продукта можно получить дешёвую и ценную биомассу, которая может применяться в качестве кормовой добавки в животноводстве, птицеводстве, рыбном хозяйстве. Эта технология позволяет, с одной стороны, проводить процесс эффективной биоочистки водоёмов от органического загрязнения, с другой – использовать сточные воды в качестве питательной среды для массового культивирования микроводорослей с целью получения дешёвой биомассы, богатой белками, углеводами и витаминами, которая является кормовой добавкой с лечебно-профилактическим действием и может быть рекомендована к применению в рыбном и сельском хозяйстве (рис. 2).

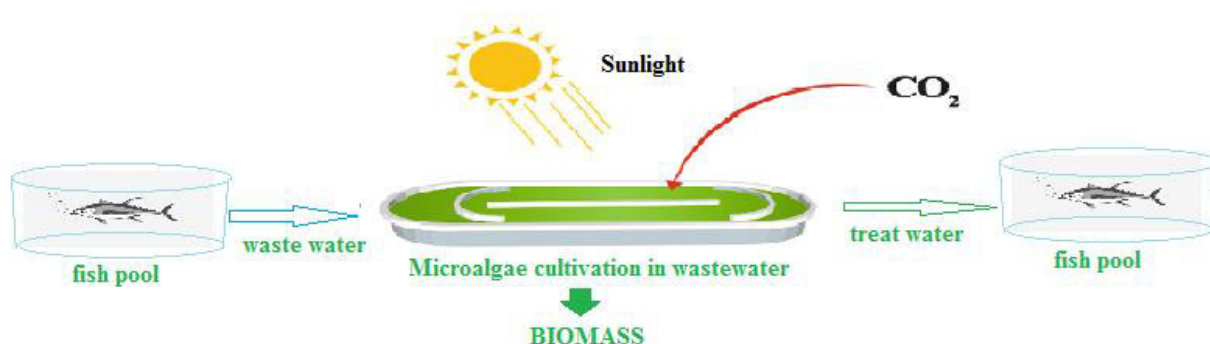


Рисунок 2. Биологическая очистка рыбохозяйственных сточных вод с помощью микроводорослей.

Использование штамма *Chlorella vulgaris* SP BB-2 с заложенными в нем возможностями биологической реабилитации сточных вод позволяет изменить экологическую обстановку и создать надежную систему оздоровления окружающей среды. При этом дополнительно появляется возможность получения биомассы микроводорослей, которая является кормовой добавкой с лечебно-профилактическим действием и может быть рекомендована к применению в животноводстве, птицеводстве и других отраслях сельского хозяйства

### *Литература*

- 1 Бурлаченко, И.В. Новые подходы к совершенствованию биологической очистки в системах с замкнутым циклом водообеспечения для выращивания рыб / И.В. Бурлаченко // Матер. Докл. / Науч.-практ. конф. 154 154 Пресноводная аквакультура: состояние, тенденции и перспективы развития Тюмень, 18-20 нояб. 2008г. – Тюмень: Госрыбцентр, 2010. – С. 37-39.
- 2 Заядан Б.К. Фототрофные микроорганизмы в экологическом мониторинге и биоремедиации загрязненных водных экосистем. Монография. – Алматы, Арыс, 2010. – С. 380
- 3 Макарова Е.И., Отурина И.П., Сидякин А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей -обитателей водных экосистем. Экосистемы, их оптимизация и охрана №1 (20). 2009. с.120-133
- 4 Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – Киев: Наукова думка, 1975. -247с.
- 5 А.Г. Муравьев. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. Третье издание Крисмас + Санкт-Петербург. 2004
- 6 Брагинский Л.П., Крайнюкова А.Н. Методы оценки токсичности сточных вод и перспективы их использования в контроле природных вод // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. Л.:Гидрометеиздат, 1989.- С.194-203
- 7 Al-Darmaki A, Govindrajan L, Talebi S, Al-Rajhi S, Al-Barwani T, Al-Bulashi Z (2012) Cultivation and characterization of microalgae for wastewater treatment. Proceedings of the World Congress on Engineering 2012 vol I. WCE 2012, London4–6 July 2012,
- 8 Ansari F.A., Singh P., Guldhe A., Bux F. Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: integrated biomass generation and nutrientremediation. Algal Res21:169–177(2017)
- 9 Camargo J. A., Alonso Á. Ecological and toxicological effects of in organic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. EnvironInt 32:831–849(2006).

УДК: 604.2

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ И ВОДОРОСЛЕЙ В ФИТОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД**

Б.К. Заядан, Ж.М. Бұхарбаева, Г.И. Ерназаров

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г.Алматы  
e-mail: [zbuharbaeva@mail.ru](mailto:zbuharbaeva@mail.ru)*

**Аннотация.** Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами в настоящее время является глобальной проблемой, занимают второе место после радиоактивного загрязнения. Следствием нефтяных разливов являются экологические катастрофы во всем мире. Актуальность экологических проблем очистки нефтезагрязненных сточных вод диктует необходимость применения нестандартных технологий очистки сбросов загрязняющих веществ промышленными предприятиями. Необходим комплексный и в то же время локальный взгляд на проблему загрязнения. Поэтому необходимость разработки и применения новых, эффективных, недорогих и экологически безвредных методов очистки от

нефтяных загрязнений очевидна. В этом обзоре рассматриваются основные роли и возможности водных растений и водорослей в фиторемедиации нефтезагрязненных сточных вод. Широкое применение водных растений и водорослей обусловлено их доступностью, устойчивостью в токсичной среде, потенциалом биоаккумуляции, инвазивным механизмом и потенциалом биомассы.

**Ключевые слова:** нефть, нефтепродукты, окружающая среда, сточные воды, биоремедиация, биоаугментация, высшие водные растения, микроорганизмы, водорослей-макрофитов, биомасса, биопрепараты

В настоящее время очистку сточных вод от нефти и углеводородов осуществляют применением механических, физико-химических, химических методов очистки, эти методы не только дороги и недостаточно эффективны, но и могут наносить дополнительный вред окружающей среде. Показано, что биоремедиация имеет огромный потенциал и конкурентные преимущества, прежде всего, вследствие экологической безопасности и низкой стоимости. Способность микроорганизмов и водных растений к трансформации или деградации углеводородов нефти хорошо известна и позволяет использовать их для биоремедиации загрязнённых территорий. Методы биоремедиации основаны на использовании эндогенных (биоремедиация *in situ* и *ex situ*) или интродуцируемых (биоаугментация) микроорганизмов для очистки загрязненной окружающей среды. Предложен способ очистки поверхностных вод в прибрежных районах моря, бухтах и других зонах возможного промышленного загрязнения нефтепродуктами путем биологической обработки воды с использованием водорослей в сочетании с микроорганизмами. Этот способ включает размещение в районе загрязнения фильтра, заполненного сорбирующей средой, заселенной нефтеокисляющими микроорганизмами, в качестве сорбирующей среды предлагается использовать плавучую водорослевую плантацию, основу которой составляет система соединенных между собой синтетических канатов, засаженных ламинарией и фукусовыми водорослями [1].

Всё чаще для очистки территорий и акваторий от нефти и нефтепродуктов используются биопрепараты, которые содержат жизнеспособные клетки как отдельных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов («Путидойл», «Дизойл», «Биодеструктор», «Микромицет», «Бациспектин»), так и бактериальные ассоциации («Деворойл», «Биоойл», «Олеворин», «Родер», «Универсал», «Ленойл»). Анализ литературных данных и патентный поиск существующих биопрепаратов показал, что в ряде случаев их недостатками являются малая галотолерантность микроорганизмов в их составе, узкий диапазон рН и температур; часто отсутствуют важные данные о способности микроорганизмов продуцировать биоэмульгаторы, об эффективности деградации высоких концентраций нефти и нефтепродуктов; о наличии катаболических плазмид в клетках микроорганизмов-нефтедеструкторов [2].

В настоящее время предложен биогидроботанический способ очистки сточных вод. В его основе лежат биохимические процессы окисления, фильтрования, поглощения, накопления органических и неорганических веществ, минерализации, детоксикации, адсорбции, хемосорбции и другие. Высокий очистительный эффект достигается там, где вода протекает через сообщество полупогруженных, плавающих и погруженных в воду растений. Имеющаяся на поверхности растений слизь (перифитон), а также снижение скорости течения жидкости в зонах зарастания способствует осаждению взвешенных веществ органического и минерального происхождения, что повышает прозрачность воды. Высшие водные растения способны осуществлять детоксикацию различных вредных веществ, сбрасываемых в водоем. В результате сорбции биогенных веществ и насыщения воды водоема растворенным кислородом, выделяемым высшей водной растительностью в процессе жизнедеятельности, водорослей - макрофитов позволяют предотвратить «цветение» водоемов. Корневая система высших водных растений выделяет вещества бактерицидного действия – фитонциды, в

результате чего происходит обеззараживание водоемов. Таким образом, микроэлементный состав высшие водные растения тесно связан с составом субстрата, на котором они произрастают, растительные организмы не только сами приспосабливаются к физической среде, но и своей деятельностью приспосабливают геохимическую среду к своим биологическим потребностям [3].

За рубежом, в практике эксплуатации малых очистных сооружений, для удаления биогенных элементов наряду с прудами с высшие водные растения применяются искусственные участки обводненных земель с высаженными на них растениями – так называемые «wetland», корни растений пронизывают загрузку (как правило, гравий), через которую сплошным потоком движется очищаемая вода. Эти участки в практике называют биоплато. При использовании биоплато в северных странах, несмотря на снижение его эффективности из-за низких температур и образования льда, оно успешно эксплуатируются в Канаде (67 сооружений), Дании (130), Швеции и Норвегии (71), Чехии (28), и СНГ (30). При обработке сточных вод в биоплато большинство органических веществ и в растворе, и в виде нерастворенных частиц разлагается до углекислого газа и воды, при этом отмечается высокая эффективность удаления биогенных элементов, токсичных металлов и патогенных микроорганизмов [4].

Растения ассимилируют биогенные вещества в биомассе, а в прикорневой системе создаются условия, повышающие активность биохимических реакций, то есть водорослей - макрофитов служат катализаторами процессов очистки. Способность высшие водные растения к очищению вод от различных загрязнений чаще всего контролируется показателями – биологическим и химическим потреблением кислорода. Во многих странах Америки довольно широко используется системы очистки шахтных вод на плантациях камыша и тростника. В литературе также описаны сооружения с камышовой растительностью для очистки хозяйственно-бытовых сточных вод в Нидерландах, Японии, Китае; для очистки загрязненного поверхностного стока в Норвегии, Австралии и в других странах. Стойкость камыша к действию больших концентраций загрязняющих веществ позволила довольно успешно использовать его для очистки сточных вод свиноводческих комплексов в Великобритании [5].

Очистные системы вторичной и третичной очистки бытовых сточных вод, основанные на использовании элодеи, пригодны для использования в умеренном климате, где могут круглый год удалять биогенные элементы из сточных вод. По результатам промышленно-экспериментальных исследований процесса очистки бытовых сточных вод с использованием водного гиацинта в США, степень очистки по БПК<sub>5</sub> достигает 97-98%. При очистке сточных вод чаще всего используют такие виды высшие водные растения, как камыш, тростник озерный, рогоз узколистный и широколистный, рдест гребенчатый и курчавый, спироделла многокоренная, элодея, водный гиацинт (эйхорния), касатик желтый, сусак, стрелолист обычный, гречиха земноводная, резуха морская, уруть, хара, ирис и прочие. Под влиянием загрязнителей в клетках живых организмов усиливается образование метаболически активных свободных радикалов, вызывающих повреждение компонентов клеток, такое состояние называется оксидантным стрессом. Для предотвращения его возникновения в клетках существуют антиоксидантные (АО) системы как энзиматической, так и неэнзиматической природы. Установлено, что у водорослей АО активностью обладает группа биополимеров. Большую роль в этом процессе играют витамины (А, С, Е) и глутатион. Считается, что реакция АО системы клеток гидробионтов на различные виды загрязнения является универсальной и ее показатели могут использоваться для контроля качества водной среды [6].

Казахстан относится к категории стран с большим дефицитом водных ресурсов. В настоящее время в поверхностные водоемы Казахстана сбрасывают без очистки почти 50 % стоков. Это связано с тем, что большинство предприятий перерабатывающего и энергетического комплексов Республики имеют несовершенные технологии очистки сточных

вод. Во многих областях (Кызылорда, Шымкент, Актау) длительное время без реконструкции эксплуатируются очистные сооружения предприятий. Из всех функционирующих промышленных предприятий Казахстана половина не имеет локальных очистных сооружений очистки. Нефтепродукты представляют наибольшую токсикологическую опасность для водных экосистем Казахстана. В зависимости от состава нефтепродуктов и времени контакта с водой их водорастворимая и коллоидная фракции (состоящие на 90 % из ароматических углеводородов) обнаруживаются в водоемах в концентрациях 0,5-40 мг/л. Для очистки нефтезагрязненных сточных вод от растворенных и коллоидных примесей на нефтеперерабатывающих заводах применяют отстаивание, флотацию, биологические методы. Однако не всегда эти процессы позволяют очистить воды до нормативных значений, работают не в оптимальных режимах, не используются новые реагенты, материалы и технологии водоочистки, что не позволяет осуществить на предприятиях принципы рационального водопользования. Поэтому одна из важнейших национальных экологических задач Казахстана - решение проблем, связанных с истощением и загрязнением водных ресурсов Республики [7].

Таким образом, в связи загрязнением водных ресурсов нефтью и нефтепродуктами, для решения задачи надо создать новые, эффективные, недорогие методы очистки водных ресурсов. Следовательно, необходимо развивать фитотехнологию, которая сокращает отходы углеводородов и вторичные источники техногенных сырья из водных источников загрязненных нефтяными отходами.

#### *Литература*

- 1 Воскобойников Г.М., Коробков В.А., Макаров М.В. Способ очистки морских прибрежных вод от пленочных и диспергированных в поверхностном слое воды нефтепродуктов. Пат. РФ № 2375315 от 21.02.2007.-С.41
- 2 Глазкова Е.А. Применение минеральных адсорбентов для очистки водных сред от нефтепродуктов / Е.А. Глазкова, Е.Б. Стрельникова // Химия нефти и газа: Материалы V Международной конференции, Томск, 22-26 сентября 2003 г. Томск, -2003. - С.585.
- 3 Калайда М.Л., Загустина С.Д. Водные растения: Учеб. пособие. Казань.: Изд-во Казан. гос. энерг. ун-та. – 2008. - С.114.
- 4 J.S. Dunbabin, K.H. Bowner. Potential use of constructed wetlands for treatment of industrial wastewater containing metals. Sci. Total. Environ. -2016. Vol.111. No.2/3. -P.56.
- 5 P. Ruperez, O. Ahrazem, J.A. Leal. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. J. Agric Food Chem.- 2002. Vol.50. No.4.- P.840.
- 6 G. Ruberto, V. Baratta, D. Biondi, V. Amico. Antioxidant activity of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. J. Appl. Phicol. -2001. Vol.13. No.5. -P.403
- 7 Мазлова Е.А., Иса Ж.Д. Опыт очистки нефтезагрязненных сточных вод на Шымкентском НПЗ // Экология производства. Химия и нефтехимия. - 2008. №4(14). - С. 7-9.

ӘОЖ 632.651

#### **ФИТОПАРАЗИТТІК НЕМАТОДАЛАРҒА ҚАРСЫ БИОПРЕПАРАТТАР ЖАСАУ**

Каналбек Г.Қ., Богуспаев К.К., Балабекова М.Қ., Кулболдына Д.Н.

*әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы қ., Қазақстан*

*e-mail: [gulzat.kanalbek95@gmail.com](mailto:gulzat.kanalbek95@gmail.com)*

**Аннотация.** Бүгінгі күні нематодалардың әсерінен туындаған өсімдіктердің гельминтоздары ірі ауыл шаруашылығы үшін де, қарапайым саяжайлар үшін де маңызды мәселе болып табылады, фитопаразиттік нематодалар әлемдік өнімнің 10% -ына дейін зиян

келтіреді. Нематодалар тікелей залалдан басқа өсімдіктер ауруларын тудыратын микроорганизмдердің өсімдік тамырының тініне енуіне ықпал етеді. Нематодалармен күресу үшін химиялық препараттарға қарағанда гифомицетті нематофагтық жыртқыш саңырауқұлақтар ең көп практикалық қызығушылық тудырады, өйткені зиянкестердің тұрақтылығын тудырмайды, топырақты токсиндермен ластамайды және пайдалы организмдерге теріс әсер етпейді. Осыған сәйкес жұмысымыздың мақсаты – фитопаразиттік нематодалармен күресу үшін жыртқыш саңырауқұлақтардың штамдары негізінде биопрепараттар жасау.

Жұмыс барысында жыртқыш саңырауқұлақтар штамдарын бөлу үшін Оңтүстік Қазақстанның 7 нүктесінен алынған сынамалар қолданылды. Іріктеліп алынған топырақ сынамаларынан келесі микромицеттер туыстары бөлініп алынды – *Mucor*, *Alternaria*, *Phusarium*. Бөлініп алынған жыртқыш саңырауқұлақтар *Dactylella* туысына жатады (*Dactylella heterospora* және *Dactylella gephyrospora*). Жүргізілген зерттеу жұмыстары және нәтижелері өсімдіктерді паразиттік нематодалардан қорғауды қамтамасыз ететін биопрепараттар өңдеу мүмкіндігін кеңейтеді.

**Кілттік сөздер:** фитопаразиттік нематодалар, жыртқыш саңырауқұлақтар, нематофагтық белсенділік.

### Кіріспе

Әлемнің түрлі елдерінің ауыл шаруашылығына фитопаразиттік нематодалардан үлкен зиян келеді. Олардың әсерінен өнімнің әлемдік шығыны орташа есеппен 7-10% құрайды [1]. Біздің елімізде ауыл шаруашылығына сұлы, картоп, қызылша, галлды және басқа да нематодалар айтарлықтай зиян келтіреді. Қорғалған топырақта галлды нематодалар өнімнің 50% және одан да көп шығынын тудыруы мүмкін [2]. Нематодалар тікелей залалдан басқа өсімдіктер ауруларын тудыратын микроорганизмдердің өсімдік тамырының тініне енуіне ықпал етеді [3]. Фитогельминттер санының табиғи реттеушілері туралы мәліметтер биологиялық күрес тәсілдерін дамыту үшін практикалық қызығушылық тудыруда.

Фитопаразиттік нематодалар табиғатта кең таралған. 20 000 сипатталған нематода түрлерінің 4000-ға жуық түрі өсімдіктермен тікелей байланысты [4]. Ашық және қорғалған топырақта таралған галлды нематодалар (*Meloidogyne incognita*, *M.hapla* және т. б.) ерекше зияндылықпен ерекшеленеді. Олар өсімдік тамырларында ісіктердің пайда болуын тудырады, соның нәтижесінде өнім екі есе дерлік төмендеуі мүмкін [5]. Мұндай нематодтар қызанақты, қиярды және қауынға дейінгі көптеген дақылдарды зақымдайды. Басқа да паразиттік нематодалар да үлкен зиян келтіреді: мысалы, сабақтағы нематода (*Anguillulina ipsaci*) бүлдіргенді, алтын картоп нематодасы (*Globodera rostochiensis*) Сібірде нағыз «екінші нан» болған картопқа зиян келтіреді. Климаттың өзгеруіне, сондай-ақ өңірлер арасындағы сауда байланыстарының кеңеюіне байланысты көптеген паразиттер, соның ішінде бұрын карантиндік объектілер болып саналған кейбір фитопаразиттік нематодалар жаңа аумақтарда кең тарала бастады [6].

Ауыл шаруашылығында фитопаразиттік нематодалардың санын бақылау үшін, өсімдіктерді қорғаудың интеграциялық жүйесінің бір бөлігі болып табылатын химиялық нематоцидтер қолданылады [7]. Алайда, өсімдіктерді фитопаразиттік нематодалардан қорғау биологиялық проблема болып табылатындықтан, бұл мәселені ең алдымен биологиялық әдістерді пайдалану жолдары арқылы шешеді: нематодаларға төзімді ауыл шаруашылығы дақылдарының сорттарын шығару, нематодалардың антагонистері мен еліктіргіштері ретінде жоғары сатыдағы өсімдіктерді қолдану, жыртқыш саңырауқұлақтар – гельминтофагтарды пайдалану әдістерін әзірлеу [8], сондай-ақ вермикомпосты пайдалану [9]. Алайда, Қазақстанда нематодалармен күресу үшін аталған биологиялық әдістер іс жүзінде қолданылмайды. Жоғары уытты химиялық препараттар қолданылады. Нематодалармен күресудің аталған биологиялық құралдарынан жыртқыш саңырауқұлақтар – гельминтофагтарды



вермикомпостпен пайдалану әдістері неғұрлым перспективті. Осы әдістердің негізінде жабық және ашық топырақтарда пайдалану үшін жаңа биопрепараттар құрылуы мүмкін. Қалған биологиялық әдістер агроном-селекционерлердің ұзақ (10-15 жыл) жұмысын талап етеді [10-11].

### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Зерттеу материалы ретінде Оңтүстік Қазақстанның 7 нүктесінен іріктеліп алынған топырақ үлгілері алынды. Топырақ сынамалары сынау алаңынан бір немесе бірнеше қабаттардан және жай қабаттардан конверт әдісімен, диагональ бойынша алынды [12]. Әкелінген сынамаларға химиялық және микробиологиялық талдаулар жүргізілді.

Жыртқыш нематофагтық саңырауқұлақтарды бөліп алу үшін қанттың мөлшері аз болатын кедей қоректік орталар пайдаланылды: жүгері-агарлы орта (ЖА), суло-агар (ССА), Чапека ортасы, сулы агар (СА) топырақ-агарлы орта (ТА).

Топырақ жыртқыш саңырауқұлақтардың қатыстылығына тереңдік дақылдау әдісі бойынша анықталды.

Жыртқыш саңырауқұлақтардың таза дақылы жүгері-агарлы ортасына дәстүрлі микробиологиялық әдіс бойынша бөлініп алынды.

Топырақ үлгілерінен бөлініп алынған микромицеттер саңырауқұлақтар анықтаушымен идентификацияланды, анықтаушы бойынша жыртқыш және жыртқыш емес саңырауқұлақтар ажыратылып, Даддингтонның анықтаушымен нақты жыртқыш саңырауқұлақтың түрлері идентификацияланды [13].

Жыртқыш нематофагтық саңырауқұлақтардың нематофагтық белсенділігін анықтау үшін агарлы қоректік ортадағы гифомицетті саңырауқұлақ дақылынан метал түтікшенің көмегімен диаметрі 3 мм блок кесілді, ол диаметрі 15-20 мм парафинді сақиналары бар заттық шыныға салынған нематодалардың суспензиясына енгізілді. Әрбір сақинаға 0,1 мл, ал табақшаларға 1,5 мл нематода суспензиясы енгізілді. Нематода суспензиясының ортасына саңырауқұлақ дақылының блогы орналастырылды. Препараттарға 2-6 сағаттан кейін бақылау жүргізілді. Визуальді бақылау арқылы тірі қалған нематодаларды микроскопта санау жүргізіліп, нематофагтық белсенділік формула бойынша есептелінді [14].

### **Зерттеу нәтижелері мен оның талдаулары**

Оңтүстік Қазақстан өңірінен іріктеліп алынған топырақтың 7 сынамаларынан беттік дақылдау әдісі бойынша әртүрлі қоректік орталарда микромицеттер бөлініп алынды (Сурет 1).



Сурет 1. Топырақ үлгілерінен бөлініп алынған микромицет колониялары

Морфологиялық көрсеткіштері бойынша топырақтан бөлініп алынған микромицеттер қатарынан Даддингтонның анықтаушы бойынша жыртқыш саңырауқұлақтар анықталды (Кесте 1).

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Кесте 1. Саңырауқұлақтардың таза дақылын алу үшін бөлініп алынған микромицеттердің түрлері

Сынама №	Туыс	Түр
Үлгі 3	<i>Mucor</i> <i>Fusarium</i> <i>Dactylella</i>	<i>Mucor mucedo</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Dactylella gephyropaga</i>
Үлгі 6	<i>Mucor</i> <i>Alternaria</i> <i>Dactylella</i>	<i>Mucor mucedo</i> <i>Alternaria alternate</i> <i>Dactylella heterospora</i>

Топырақтың Үлгі 3, Үлгі 6 сынамаларынан *Dactylella* туысына жататын жыртқыш саңырауқұлақтардың екі түрі анықталды және таза дақылы алынды: *Dactylella gephyropaga*, *Dactylella heterospora*.

Бөлініп алынған жыртқыш саңырауқұлақ штамдарының нематофагтық белсенділігі уксустық нематода негізінде анықталды (Кесте 2).

Кесте 2. Жыртқыш саңырауқұлақтардың нематофагтық белсенділігі

Штамм	Аттрактивті белсенділік (6 сағ кейін саңырауқұлақ блогіндегі нематодалар саны)	Нематофагтық белсенділік (өлген нематодалар саны)	
		1 күннен кейін	2 күннен кейін
<i>Dactylella gephyropaga</i>	50	80	100
<i>Dactylella heterospora</i>	87	100	100

### Қорытынды

Фитопаразиттік нематодаларға қарсы биопрепарат жасау барысында *Dactylella* туысының *Dactylella gephyropaga*, *Dactylella heterospora* түрлері бөлініп алынды. Екі штамның нематофагтық белсенділігі анықталды. Нәтижеге сәйкес екі штамм да жоғары аттрактивті белсенділік көрсетті, бұл соңғы нәтижеге оң әсер етті. Бірінші штамда нематодалардың қырылуы 80 болса, екіншіде 100 пайыз болды. Осы дәлелдерге сай, бөлініп алынған жыртқыш саңырауқұлақтардың штамдары өсімдіктерді паразиттік нематодалардан қорғауды қамтамасыз ететін биопрепараттар жасауда негізгі объект бола алады.

### Әдебиеттер

- 1 Лисецкая Л.Ф. Паразитические нематоды эфиромасличных культур и меры борьбы с ними. - Кишинев: Штиинца. - 1980. - 31 с
- 2 Лашкова И.А., Данилов Л.Г. Результаты испытания различных средств борьбы с галловыми нематодами // Биологические основы борьбы с нематодами: Труды Всес. ин-та защиты растений. - 1982. – С 50.
- 3 Сагитов А.О., Перевертин К.А. Фитонематология - сельскохозяйственному производству. - Алма-Ата: Кайнар. - 1987. - 184 с.
- 4 Сагитов А.О., Шестеперов А.А. Паразитические нематоды сельскохозяйственных культур. - Алма-Ата: Кайнар. - 1982. - 27 с.
- 5 Филиппов Н.А. Современное состояние и перспективы применения биологических средств борьбы с вредителями и болезнями растений в защищенном грунте // Информационный бюл. ВИС МОББ. - Л., 1988. - № 23. - С. 7-12.

- 6 Сопрунов Ф.Ф., Шаталин С.Ф. Препарат хищных грибов и его применение в борьбе с круглыми паразитическими червями. - Ашхабад: Изд-во АН Туркм. ССР. - 1963. - 19 с.
- 7 Третьяков А.П., Кучина С.Н., Стирманова Н.И., Садонов В.Э. Применение микробиологических препаратов против галлообразующих нематод в защищенном грунте // Агрехимия. - 1997. - № 6. - С. 67-70.
- 8 Кондакова Е.И. Хищные грибы в Подмоскowie // Доклады ВАСХНИЛ. - 1958. - Вып. 3. - С. 28-33.
- 9 Теплякова Т. В. Биоэкологические аспекты изучения и использования хищных грибов-гифомицетов. Новосибирск. - 1999. 252 с.
- 10 Андреева Т.В., Акулин Н.А., Мацкевич Н.В. О некоторых видах нематофаговых хищных грибов Новосибирской области // Сиб. вестн. с.-х. науки. - 1973. - № 6. - С. 39-45.
- 11 Мацкевич Н.В., Теплякова Т.В., Приходько В.Ф. Стабилизация нематофаговых свойств хищных грибов при их развитии в культуре // Микробиологические методы борьбы с вредителями растений. - Новосибирск, 1980. - Вып. 2/36. - С. 25-29.
- 12 Великанов Л.Л., Успенская Г.Д. Некоторые вопросы экологии грибов / пути формирования основных экологических групп грибов, их место и роль в биогеоценозах // Итоги науки и тех. науки. М., 1980. - Сер. ботаника. - С. 49-105.
- 13 Duddington G.L. Nematode-destroying fungi in agricultural soil // Nature. - 1954. - Vol.173. - P.500-501.
- 14 Методические указания по испытанию биопрепаратов для защиты растений от вредителей, болезней и сорняков. - М.: Колос - 1973.-31.

УДК 57.085.23

## ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В КАЗАХСТАНЕ

Р.К. Карипбаева, А.Т. Канаев, М.Е. Исмаилова, А.Б. Хани

*Научно-исследовательский институт проблем биотехнологии НАО Жетысуский университета им.*

*И.Жансугурова, г. Талдыкорган, Республика Казахстан*

*e-mail: rasima.24.02@mail.ru*

**Аннотация.** Известно, что древесные, и особенно хвойные растения, характеризуются медленным ростом, трудно укореняются, содержат большое количество вторичных соединений (фенолы, терпены и т.д.), которые в изолированных тканях активируются. Однако использование методов культуры ткани необходимо как для сохранения и быстрого размножения элитных генотипов хвойных в сравнительно небольшие сроки и независимо от сезона. Метод позволяет получить массовое количество оздоровленного, ювенилизированного посадочного материала. Постепенное совершенствование методов микроклонального размножения обеспечит широкое внедрение в реализацию программ размножения и восстановления хвойных лесов в Республике Казахстан. Размножение хвойных растений *in vitro* может стать важным инструментом поддержания существующего биоразнообразия редких и исчезающих видов.

**Ключевые слова:** *лесной фронт, сохранение биоразнообразия, микроклональное размножение.*

Общая площадь лесного фонда Казахстана – 27,7 млн. га, а лесистость составляет 5,6 % территории страны. Покрытая лесом территория составляет 12,3 млн. га из них 1,6 млн. га (13,08 %) составляют вечнозеленые хвойные леса. Среди хвойных ель (*Picea L.*) составляет 1,9 га (1,52 %). Хвойные растения имеют неопределимое экономическое значение, в основном в

качестве лесоматериала и сырья для производства бумаги, также многие хвойные растения имеют большое значение в озеленении и в качестве декоративных садовых растений. Несмотря на выше перечисленные достоинства, в настоящий момент отмечено резкое сокращение видового разнообразия хвойных растений в естественных экосистемах. В связи с этим сохранение генофонда растений и рациональное использование растительных ресурсов является актуальной научной проблемой. При этом укоренение черенков хвойных при традиционном методе размножения – черенковании часто бывает очень длительным, от нескольких месяцев до полутора лет, что неэффективно для восстановления биоразнообразия хвойных растений. Леса подвергаются воздействию целого ряда природных явлений (например, природных пожаров, вредителей, болезней, неблагоприятных погодных явлений), которые могут отрицательно сказаться на их здоровье и жизнеспособности, вызывая гибель деревьев или снижая их способность обеспечивать весь спектр товаров и услуг. По результатам анализа площади лесов мира, пострадавших от пожаров в 2003–2012 годах, было выяснено, что ежегодно пожарами уничтожается примерно 67 млн га [1]. В 2015 году от пожаров пострадало около 98 млн га лесов.

Технология микроклонального размножения и выращивания посадочного материала для хвойных пород на сегодняшний день до конца не разработана и не усовершенствована. Хвойные растения наиболее сложные объекты для микроклонального размножения *in vitro*. Все типы тканей и органов у них сильно заражены грибами и бактериями, что значительно затрудняет размножение в культуре *in vitro*, однако разработка такой технологии даст возможность удовлетворить спрос на посадочный материал хвойных растений. Микроклональное размножение позволяет производить большое количество побегов из относительно небольшого количества исходного растительного материала. Он особенно эффективен в случае новых разновидностей, когда растительный материал ограничен в поставке. Например, это эндемичные виды хвойных растений, такие как стланиковая форма ели Шренка (*Picea schrenkiana* f. *prostrata* K. Isakov) и можжевельник зеравшанский (*Juniperus seravschanica* Kom.).

В Республике Казахстан работы по микроклональному размножению хвойных растений малочисленны. Попытки по изучению микроклонального размножения некоторых хвойных растений, а именно сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели обыкновенной (*Picea abies* L.) были проведены в исследованиях Р.М. Турпановой и др. Несмотря на образование адвентивных почек на хвое сосны обыкновенной, получить хорошо растущие побеги не удалось [2]. Часть научных исследований по микроклональному размножению хвойных растений была проведена российскими учеными, так исследования по микроклональному размножению хвойных проводили Е.А. Шалаев, И.Н. Третьяков, И.В. Гафицкая, А.В. Бабикова, И.Н. Третьяков, Е.В. Ворошилов, Д.Н. Шуваев, М.Э. Пак, М.С. Султанова [3-6]. Также имеются зарубежные научные исследования по микроклональному размножению хвойных растений. Так, итальянскими учеными было проведено размножение норвежской ели (*Picea abies* (L.) Karst.). В исследовании часть семян была посеяна в теплицы, а другая часть использовалась для индукции соматического эмбриогенеза. Эффективность размножения *P. abies* из семян и путем соматического эмбриогенеза была тесно связана с происхождением растительного материала [7].

Анализ литературных источников показал, что успешность жизнеспособности и укореняемости хвойных растений в культуре *in vitro* зависят от многих факторов: физико-химический состав субстрата, природа и концентрация фитогормонов в среде, собственный возраст отобранного растительного материала, его физиологическое состояние. Кроме того, эффективность микроклонального размножения сильно варьирует между различными генотипами при одинаковых условиях культивирования, также лимитирующим фактором являются бактериальные и грибковые инфекции, которые на питательной среде за счет

оптимальных условий и достаточного количества питательных веществ активно ингибируют рост самих растений [8].

В настоящее время стланиковая форма ели Шренка и можжевельник зеравшанский из-за хозяйственной деятельности: порубки на топливо, выпаса скота, относятся к редким видам растений [9]. Стланиковая форма ели занесена в Красную книгу Казахстана и принадлежит к категории статуса 2- редкая форма. Имеются научные исследования, связанные с распространением ели Шренка в горах Тянь- Шань [10-11], однако исследования по размножению весьма ограничены, причем не только по Казахстану. В настоящее время ель Шренка не культивируется, ранее попытка культивирования в высокогорьях Заилийского Алатау проводилась в РГП на ПХВ Институт ботаники и фитоинтродукции КН МОН РК. Однако семена ели в данном исследовании имели низкие посевные качества: грунтовая всхожесть варьировала от 3 до 13%, максимальная всхожесть семян составила 40% на почве с опилками [12]. В естественных условиях учеными Китая было изучено влияние добавления азота в почву, в результате было показано, что повышенное количество азота может улучшить рост деревьев, а также скорость фотосинтеза и транспирации [13]. Технология же микроклонального размножения к разным формам ели Шренка ранее не применялась. Однако, учитывая, что биологической особенностью еловых лесов является низкая способность к естественному возобновлению, появляется необходимость в создании устойчивых протоколов по выращиванию елей в короткие сроки. Можжевельник зеравшанский, основная порода лесов Западного Тянь-Шаня, живет до тысячи лет, также занесен в Красную книгу РК и имеет категорию 3 (редкий вид, с сокращающейся численностью). Эффективность микроклонального размножения хвойных растений во многом зависит от вида самого растения [9]. Успешная попытка оптимизации микроклонального размножения трех видов можжевельника была проведена в Пакистане, где использовались три варианта питательных сред Мурасиге и Скуга, питательная среда Woody и N6 с разными комбинацией и соотношением фитогормонов в среде. Наилучшие результаты были получены на питательной среде Мурасиге и Скуга. Для увеличения количества и роста побегов, а также корнеобразования можжевельника наиболее подходила питательная среда Woody [14].

Известно, что древесные, и особенно хвойные растения, характеризуются медленным ростом, трудно укореняются, содержат большое количество вторичных соединений (фенолы, терпены и т.д.), которые в изолированных тканях активируются. Традиционные методы не могут быть применены для некоторых хвойных растений, так классическое черенкование успешно применяют для можжевельника, туи, некоторых видов ели, однако метод неприменим для сосны, дуба, орехоплодных и т.д. [15]. Одним из приоритетных направлений в области биотехнологии растений является микроклональное размножение. В настоящее время нет устойчивых протоколов по микроклональному размножению многих хвойных растений. Использование методов культуры ткани необходимо как для сохранения и быстрого размножения элитных генотипов хвойных в сравнительно небольшие сроки и независимо от сезона. Метод позволяет получить массовое количество оздоровленного, ювенилизированного посадочного материала. Постепенное совершенствование методов микроклонального размножения обеспечит широкое внедрение в реализацию программ размножения и восстановления хвойных лесов в Республике Казахстан. Размножение хвойных растений *in vitro* может стать важным инструментом поддержания существующего биоразнообразия редких и исчезающих видов. На основе полученных результатов по оптимизации технологии микроклонального размножения, в связи с отсутствием на данное время устойчивых протоколов по микроклональному размножению хвойных растений, могут быть разработаны соответствующие технологии микроклонального размножения для отобранных дикорастущих видов хвойных растений.

*Литература*

- 1 van Lierop P. et al. Global forest area disturbance from fire, insect pests, diseases and severe weather events //Forest Ecology and Management. – 2015. – Т. 352. – С. 78-88;
- 2 Турпанова Р.М. Использование тканей и органов взрослых растений хвойных пород для размножения in vitro// Experimental Biology. – 2014. – Т. 60. – №. 1 (2). – С. 364-366;
- 3 Шалаев, Е.А. Индукция соматического эмбриогенеза у ели аянской в культуре in vitro / Е.А. Шалаев, И.Н. Третьякова // Хвойные бореальной зоны. – 2011. – Т. 28, № 1-2. – С. 69-71;
- 4 Гафицкая И.В. Бабилова А.В. К вопросу микроклонального размножения хвойных// Регионы нового освоения: современное состояние природных комплексов и вопросы их охраны, 11-14 октября 2015 г., г. Хабаровск: российская конф. с междунар. участием: сб. материалов / ДВО РАН. – Хабаровск: ИВЭП ДВО РАН. – 2015. – С. 38-39;
- 5 Третьякова И.Н., Ворошилова Е.В., Шуваев Д.Н., Пак М.Э. Перспективы микроклонального размножения хвойных в in vitro через соматический эмбриогенез// Хвойные бореальной зоны. – 2012. – Т. 30, № 1-2. – С. 180-186;
- 6 Султанова, М.С. Особенности микроклонального размножения и органогенез некоторых представителей хвойных пород: Sequoiadendron giganteum Lindl. и Biota orientalis L.: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – СПб. – 2016. – 24 с;
- 7 Ragonezi C. et al. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors //Trees. – 2010. – Т. 24. – №. 6. – С. 975-992;
- 8 Deuber C. G. et al. Vegetative propagation of conifers //Transactions Conn. Acad. Arts Sci. – 1940. – Т. 34. – С. 1-83;
- 9 Красная книга Казахстана. Том 2. Часть 1. Растения. Издание 2-ое, исправленное и дополненное. – Алматы. – 2014. – С. 431;
- 10 Zaidi M. A. et al. Micropropagation and conservation of three Juniperus species (Cupressaceae) //Pakistan journal of Botany. – 2012. – Т. 44. – №. Suppl. 1. – С. 301-304;
- 11 Wang T., Ren H., Ma K. Climatic signals in tree ring of Picea schrenkiana along an altitudinal gradient in the central Tianshan Mountains, northwestern China //Trees. – 2005. – Т. 19. – №. 6. – С. 736-742;
- 12 Zhang R. Intra-annual radial growth of Schrenk spruce (Picea schrenkiana Fisch. et Mey) and its response to climate on the northern slopes of the Tianshan Mountains //Dendrochronologia. – 2016. – Т. 40. – С. 36-42;
- 13 Кердяшкин А. В. Культивирование ели Шренка в высокогорьях Заилийского Алатау// Леса России: политика, промышленность, наука, образование. – 2018. – С. 145-147;
- 14 Gong L., Zhao J. The response of fine root morphological and physiological traits to added nitrogen in Schrenk's spruce (Picea schrenkiana) of the Tianshan mountains, China //PeerJ. – 2019. – Т. 7. – С. e8194;
- 15 Матраимов М. Б. Теоретические и практические аспекты черенкования "Теоретические и практические аспекты черенкования" хвойных пород древесных растений //Известия ВУЗов (Кыргызстан). – 2005. – №. 6. – С. 158-159.

УДК 632.4.01.08

## ҚАНТ ҚЫЗЫЛШАСЫН САҚТАУ КЕЗІНДЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЗАЛАЛСЫЗДАНДЫРУ

Кашаганова Д.У., Туякбаева А.У.

Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия Ұлттық Университеті, Нур - Султан, Қазақстан  
e-mail: kashaganova.dilan@mail.ru

**Аннотация.** Мақалада қант қызылшасының шіруін тудыратын микроағзаларға қарсы антагонист-дақылдарды іздестірілуі қарастырылды. Тест-культура ретінде коллекциялық лактобактериялар мен *Bacillus* туысына жататын бактериялар алынды. Антагонистік белсенді дақылдарды талдау және скрининг нәтижесінде қант қызылшасы шіріктің бірнеше қоздырғыштарына жоғары көрсеткіштер беретін дақылдар таңдалды. Барлық категорияларда СҚБ дақылдары басым болды.

**Түйін сөздер:** қант қызылшасы, биологиялық бақылау, бактериялар, саңырауқұлақтар, кагаттық шіру, антагонистер, СҚБ.

Әлемдік егіншілікте қант қызылшасы айтарлықтай аумақты алып жатыр. Қант қызылшасы алып жатқан ең үлкен аудандар Украинада, Ресейде, Қытайда, Польшада, Францияда, Ұлыбританияда, Германияда, Италияда; ол Бельгия, Беларусь, Жапония, Венгрия, Түркия, Грузияда өсіріледі. Еуропа елдерінде қызылша қанты әлемдегі жалпы егіннің 80% - на дейін өндіріледі [1,2].

Қант қызылшасын сақтау кезінде қанттың жоғалуы және оның технологиялық сапасының нашарлауы көкөністердің тыныс алуына және микробиологиялық процестерге байланысты. Олар сонымен қатар сақтауға арналған шикізаттың сапасына және сақтау процесі жүретін жағдайларға байланысты. Сақтау процесінде микроорганизмдердің көбеюінің салдары - кагат шірігі. Қазіргі уақытта қант қызылшасының кагат шірігі - бұл қант қызылшасының ауруы ғана емес, сонымен қатар егіс алқаптарының негізгі реттеушісі [3,4].

Кажат шірігінің негізгі қоздырғыштары *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria alternate*, *Oospora betae*, *Verticillium sp.* және т.б.

*Botrytis cinerea*, *Phoma betae*, *Fusarium culmorum* - тірі тамырға әсер ететін өте белсенді қоздырғыштар. Әртүрлі түрлері *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* және т. б. - қант қызылшасы тамырының өлі тінінде дамиды саңырауқұлақтар [5,6,7].

Жұқпалы аурулардың қоздырғыштарын басудың оңай әдісі химиялық қорғаныс құралдарын қолдану болып табылады. Оның бірқатар жағымсыз әсерлері бар: фитопатогендердің тұрақты түрлерінің пайда болуы, микробиоценоздардағы пайдалы микроорганизмдер санының азаюы және топырақта улы заттардың жиналуы [8,9].

Қызылшаны сақтаудың перспективалы бағыты әртүрлі биологиялық стимуляторларды қолдану болып табылады. Мұндай биопрепараттардың негізі – ауру қоздырушылардың антагонистерінің белсенді жоғары штамдары. Олар экологиялық таза, адамдар мен қоршаған орта үшін қауіпсіз [10].

Жұмыс барысында сақтауға дейінгі және кейінгі қант қызылшалары қолданылды (Суреттер1,2). Сақтау алдында қызылшаның беті құрғақ болды. Кейбір үлгілерде кішкене зақым болды. Әрі қарай, шірік пайда болу үшін қызылша зертханада бөлме температурасында ылғалды жағдайда сақталды. Екі аптадан кейін қызылшада шырғандарды кесу орнында және зақымдалған жерлерде көгеру пайда болды, жағымсыз иіс пайда болды.



Сурет 1. Сақтау алдында қант қызылшасы



Сурет 2. Екі аптадан кейінгі қант қызылшасы

Микроорганизмдерді оқшаулау үшін орталар пайдаланылды: қоректік агар, агар Эндо, Чапек ортасы, картоп-глюкоза агары (КГА). Бактериялық флораны бөлу үшін дақылдар 24 сағат ішінде 37°C температурада, микроскопиялық саңырауқұлақтарды бөлу үшін – 5 күн немесе одан да көп 25°C температурада инкубацияланды. Қоректік агар мен Эндо ортасы бактериялық дақылдарды, Чапек ортасы мен картоп-глюкоза агарын микроскопиялық саңырауқұлақтар өсіру үшін пайдаланылды. Микроскопиялық саңырауқұлақтарға, бактерияларға, қант қызылшасының бетінен алынған ашытқыларға қарсы антагонизм мүмкіндігі үшін СҚБ дақылдары мен грам-оң бактериялардың дақылдары тексерілді. 1-ші кезеңде қант қызылшасының кагат шірігінің негізгі қоздырғышы ретінде сақталған қант қызылшасынан оқшауланған мицелиалды саңырауқұлақтарға антагонистер таңдалды. Микроскопиялық саңырауқұлақтар дақылдары тәулік бойы Чапек агарындағы Петри ыдыстарында 28 ° С температурада өсірілді. Әдіске байланысты тесіктер жасалды, блоктар қойылды. Әрі қарай, зерттелетін Петри шыныаяқтары термостатта қалды және күн сайын 7 күн бойы саңырауқұлақтардың өсуі байқалды.

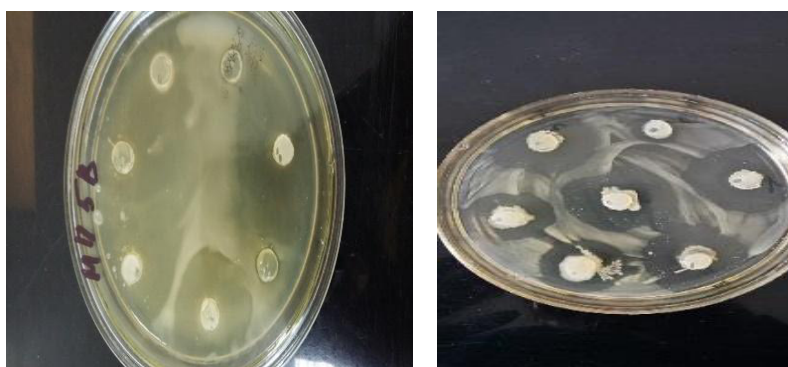
Сынақ штамдары ретінде лактобацилл мен 51 бациллдің 61 культурасы қолданылды. Зерттеулер нәтижесінде СҚБ мен бациллалардың фитопатогендік саңырауқұлақтардың өсуін тежейтін қабілеті бар екендігі анықталды (Сурет 3). Барлық категорияларда СҚБ LB2, LB4, LB96 және *Bacillus* B154 және *Bacillus* 41Б дақылдары басым. Жоғары дәрежелі көрсеткіштер 9-20 мм аралығында.





Сурет 3. Зерттелетін бактериялардың фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы тест-культураларының антагонистік белсенділігі

Осылайша, сақталған қант қызылшасынан оқшауланған мицелиалды саңырауқұлақтарға антагонистер таңдалды. 2-ші кезеңде сақталған қант қызылшасынан бөлінген бактериялар мен ашытқыларға антагонистер таңдалды. Бағалау блоктар, егу, тесіктер әдісін қолдана отырып жүргізілді. Сынақ дақылдары ретінде 42 дақыл пайдаланылды. Антагонизм 7 бациллалар мен ашытқыларға бағаланды. СҚБ-ның ең белсенді дақылдары LB32, 13LНВ – 5 дақыл және LB28 6 дақылға белсенді. Жоғары дәрежелі көрсеткіштер 9-20 мм аралығында. Бактериялық және ашытқы инфекцияларына бацилл антагонизмін зерттеу нәтижелері 4-суретте көрсетілген.



Сурет 4. Зерттелген бациллалардың тест-дақылдарының ашытқыларға (а), бациллаларға (б) қарсы антагонистік белсенділігі

Сондай – ақ, тесіктер мен блоктар әдісі бациллаларға, ал егу әдісі лактобациллаларға қолайлы деп тұжырымдалды, онда олар жақсы нәтижелер берді. Егу кезінде бациллалар ешқандай оң нәтиже бермеді, ал СҚБ жағдайында блоктар мен тесіктер әдісімен бактериялардың тежеу көріністерін анықтауға болады.

Осылайша, бактериялық дақылдардың антибиотикалық заттарды қалыптастыру қабілетіне байланысты олар бірқатар фитопатогендік саңырауқұлақтарға, бактериялар мен ашытқыларға қарсы антагонистік белсенділікке ие екендігі анықталды.

#### **Әдебиеттер**

- 1 Горбунов Н.Н. Хранение сахарной свеклы в поле и на заводе / Н.Н. Горбунов, А.В. Пивоваров. М.: Пищевая пром-сть, 1977. - 87 с.
- 2 Стогниенко О.И., Воронцова А.И. Видовой состав возбудителей кагатной гнили сахарной свеклы при краткосрочном хранении в полевых условиях // Защита и карантин растений. – 2015. – № 1. – С. 26-28.
- 3 Свиридов А.В. Защита корнеплодов сахарной свеклы от кагатной гнили // Защита и карантин растений. – 2014. – № 5. – С. 29-30.
- 4 Стогниенко О.И., Селиванова Г.А. Болезни сахарной свеклы, их возбудители. - Воронеж: Антарес, 2012. – 112 с.

5 Новикова И.И., Литвиненко А.И., Бойкова И.В. и др. Биологическая эффективность новых микробиологических препаратов Алиринов Б и С для защиты растений от болезней в разных природно-климатических зонах // Микология и фитопатология. - 2003. - Т. 37, Вып.1. - С. 92-97.

6 Коломиец Э.И., Романовская Т.В., Молчан О.В. Оптимизация технологических параметров глубинного культивирования *Bacillus subtilis* – антагониста фитопатогенной микрофлоры в лабораторном и опытно-промышленном ферментерах // Матер. междунар. науч. конф. «Микробиология и биотехнология XXI столетия». - Минск, 2002. – С. 232-233.

7 Чикилева А.Е., Орлова Л.А., Михеева Л.Д. Оптимизация параметров глубинного культивирования бактерий *Bacillus subtilis* 12А // Матер. междунар. науч. конф. «Микробиология и биотехнология XXI столетия». - Минск, 2004. – С. 123-124.

8 Лабутова Н.М. Альтернатива минеральным удобрениям и пестицидам // Коммерческая биотехнология. – 2011: <http://www.cbio.ru>, 18.09.19.

9 Свиридов А.В. Защита корнеплодов сахарной свеклы от кагатной гнили // Защита и карантин растений. – 2014. – № 5. – С. 29-30.

10 Свиридов А.В., Коломиец Э.И. Бактерии-антагонисты в защите сахарной свеклы от кагатной гнили. - Гродно, 2012. – 187 с.

УДК 579.68

## **ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ РОДА ANOXUVACILLUS SP. ИЗ ЖАРКЕНТСКОГО ГЕОТЕРМАЛЬНОГО ГОРЯЧЕГО ИСТОЧНИКА**

Кистаубаева А.С.<sup>1</sup>, Машжан А.<sup>1</sup>, Савицкая И.С.<sup>1</sup>, Биркеланд Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, кафедра биотехнологии, 050000 пр. аль-Фараби, Алматы, РК.

<sup>2</sup>Университет Бергена, Департамент Биологии, г.Берген, Норвегия  
e-mail: [kistaubayeva\\_kaznu@gmail.com](mailto:kistaubayeva_kaznu@gmail.com), [Nils.Birkeland@uib.no](mailto:Nils.Birkeland@uib.no)

**Ключевые слова:** Геотермальные источники, термофильные бактерии, идентификация, метагеномный анализ, термозимы.

На территории Казахстана имеется огромное количество геотермальных источников, которые на сегодняшний день недостаточно изучены как с точки зрения экологии, так и с точки зрения биотехнологического потенциала.

Одним из таких источников является Жаркентский геотермальный горячий источник, который находится в Алматинской области Казахстана.

Современным и высокопроизводительным методом в настоящее время является - метод основанный на анализе геномных и амплисек библиотек, полученный для образцов микробных сообществ методами секвенирования. Этот трендовый подход получил свое название как «метагеномика», именно этим методом в работе были исследованы природные горячие источники.

В ходе выполнения экспериментальных работ внимание было сфокусировано как на изучении микробного сообщества, так и на поиске новых штаммов для биотехнологического применения, в частности на выделении термофильных бактерий и поиска современных промышленно важных ферментов.

Метагеномные исследования Жаркентского геотермального горячего источника дали определенный объем знаний о биоразнообразии микробных сообществ и их обитателей. Кроме того, нами было показано, что микробное сообщество Жаркентского геотермального горячего источника содержит в себе большое количество микроорганизмов, которые не были обнаружены в других геотермальных местах обитания Казахстана. Исследуя термофильные

микробные биопленки, несмотря на развитие современных подходов анализа микробиологических сообществ, по-прежнему актуальными остаются и классические методы микробиологии, направленные на выделение новых штаммов бактерий из природных мест обитания, с последующим их филогенетическим описанием и геномным секвенированием.

В рамках исследования были выделены представители разных термофильных родов бактерий, таких как *Thermoactinomyces*, *Geobacillus*, *Anoxybacillus* и т.д.

© Кистаубаева А.С., Машжан А., Савицкая И.С.<sup>1</sup>, Биркеланд Н. Работа была выполнена при поддержке Международного гранта СРЕА-LT-2017/10061. «Network for research-based higher education in microbial biotechnology».

Было установлено, что род *Anoxybacillus* был широко представлен в данном геотермальном источнике. Известно, что род бактерий *Anoxybacillus* состоит из 22 видов и двух подвигов, но связь между его образом жизни и геномом мало изучена.

В связи с этим, нами были подробно изучены все выделенные культуры 3A1AC, 3A2AC, 3A3AC, 3A4AC, 3A5AC и охарактеризованы как биохимическими тестами, так и молекулярными методами. На основании молекулярного анализа 3A1AC, 3A2AC, 3A3AC, 3A4AC, 3A5AC все штаммы были идентифицированы и отнесены к представителям рода *Anoxybacillus*.

Для определения филогенетического положения по последовательностям гена 16S рПНК было построено филогенетическое дерево с использованием последовательностей всех пяти отобранных штаммов и последовательностью их генов 16S рПНК с использованием типовых штаммов, принадлежащих к роду *Anoxybacillus*.

В ходе исследований нами были установлены, что штамм 3A1AC продемонстрировал высокий уровень сходства 100,00% с типовым штаммом *Anoxybacillus sp. DR02* и *Anoxybacillus salavatliensis*, что позволяет отнести его к этому виду. Выделенный штамм 3A2AC продемонстрировал схожую связь на 100,00% с типовыми штаммами *Anoxybacillus sp. K-103*, *Anoxybacillus kamchatkensis G10*, штамм *Anoxybacillus salavatliensis*, штамм *Anoxybacillus gonensis G2* и с клонированным штаммом *Anoxybacillus flavithermus LK4*. Штамм 3A3AC сходство по последовательностям 16S рПНК продемонстрировал с *Anoxybacillus sp. DR04* на 99,80%, штамм *Anoxybacillus gonensis G2* на 99,80% и штамм *Anoxybacillus kamchatkensis G10* проявил сходство на 99,80%. Штамм 3A4AC продемонстрировал тесную связь с 99,93% со сходством с *Anoxybacillus sp. DR02*, штамм *Anoxybacillus kamchatkensis TS13* и с бактериальным клоном *bac50*, в то время как штамм 3A5AC был тесно связан со сходством на 100,00% с *Anoxybacillus sp. DR02*, *Anoxybacillus salavatliensis*.

Выделенные штаммы показали хорошую ферментативную характеристику по результатам их культивирования на твердой питательной среде. Для выявления генов ферментов, способных к гидролизу компонентов биомассы, нами были проведены полногеномные секвенирования всех выделенных 5 штаммов для создания промышленно ценных штаммов.

#### Литература

1 Prescott L. M., Harley G. P., and Klein D. E. (1993) Microbiology. W. Brown Publishers, Dubuque, Iowa, USA. vol. 2, pp. 588-591.

2 Blasam T. M., Hala I., Al D., Atef J., Saleh AL., Christian K. (2017) Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential Producers of Thermostable Enzymes. *Inter. J. of Microbiology*. pp. 1-12.

УДК 574.632

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТИОМОЧЕВИНЫ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ  
МОЛЛЮСКОВ РОДА *SINANODONTA* БАССЕЙНА РЕКИ КАЙ, ВЬЕТНАМ**

П.В. Машкин<sup>1\*</sup>, В.М.Ольшанский<sup>1</sup>, С.В.Волков<sup>1</sup>, Ю.А. Ким<sup>2</sup>, В.К.Утешев<sup>2</sup>, Чан Дык Зиен<sup>3</sup>,  
Труогн Ба Хай<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), г. Москва, Российская Федерация*

<sup>2</sup>*Институт биофизики клетки Российской академии наук, г. Пущино, Российская Федерация*

<sup>3</sup>*Российско-Вьетнамский тропический Центр, Приморское отделение, г. Нячанг, Вьетнам*

<sup>4</sup>*Российско-Вьетнамский тропический Центр, Южное отделение, г. Хошимин, Вьетнам  
e-mail: pmashkin@yandex.ru*

**Аннотация.** В работе представлены результаты ознакомительных экспериментов по влиянию удобрений, содержащих тиомочевину на сердечную деятельность моллюсков рода *Sinanodonta* провинции Кхан Хоа, Вьетнам. Для неинвазивного контроля кардиоритмов непосредственно через раковину, использовался оптокардиограф с оптопарой CNY70. Растворы с концентрациями тиомочевины 0,5-1,5 г/л вызывали незначительное замедление кардиоритма в первые 3 часа. В течение последующих 8 суток амплитуда кардиоимпульсов, их частота восстанавливались практически до нормы. Раствор с концентрацией тиомочевины 5г/л резко негативно влияет на сердечную деятельность, вызывает появление паттернов кардиоимпульсов с разной амплитудой и структурой импульса, но не вызывает гибели моллюсков в течение 4 суток. Содержание моллюсков в среде с концентрацией 10г/л резко изменяет поведение, частоту сердечных сокращений и приводит к одновременной гибели всех моллюсков на 4 –е сутки. Эксперименты показали, что моллюски рода *Sinanodonta*, обитающие в бассейне реки Кай, сильно загрязненной удобрениями, имеют высокую степень адаптации к загрязнениям удобрениями, способны жить и размножаться в этих условиях.

**Ключевые слова:** автоматические системы непрерывного биомониторинга, пульс мидий, тиомочевина, загрязнение воды.

**Введение**

Система контроля качества воды в водных экосистемах во всех странах в настоящее время нуждается в коренном пересмотре подходов, в новой аппаратурной и методической базе. По данным химических анализов воды, в принципе невозможно предсказать биологический результат одновременного действия всех факторов. На практике требуется непрерывное слежение за качеством воды для быстрого обнаружения загрязнения воды в результате техногенных аварий или природных катастроф. Наиболее адекватными методами оценки суммарного вредного воздействия на среду являются биологические методы контроля, использующие реакции живых организмов на загрязнение воды. В этой связи очень перспективными представляются установки, использующие в качестве биосенсоров пресноводных и морских двустворчатых моллюсков, фильтрантов. При ухудшении качества воды эти животные закрывают створки раковины, резко снижают частоту сердечного ритма. Во время лабораторных токсикологических экспериментов их не надо кормить, они переносят длительное голодание. Моллюски малоподвижны, наклеенные с помощью водостойкого клея датчики им не мешают.

В настоящее время во Вьетнаме используется значительное количество минеральных удобрений с высоким содержанием тиомочевины. Она является биологически активным веществом, влияет на эндокринную систему (щитовидную железу и гонады) рыб, в частности при содержании в воде с концентрацией тиомочевины 0,3 г/л у клариевых сомов *Clarias gariepinus* в течение 21 дня развивается гипотиреоз [1]. Содержание сига *Singi* при

концентрации тиомочевины в среде 1г/л через 45 дней приводит к снижению массы головного мозга, мозжечка, продолговатого и среднего мозга. [2].

В литературе отсутствуют данные о влиянии тиомочевины на моллюсков рода *Sinanodonta*.

#### **Методы и материалы**

Регистрация кардиоритмов производится с помощью разработанного нами лабораторного оптокардиографа, который предназначен для одновременной регистрации физиологических ритмов 6 животных. Инфракрасная оптопара CNY70 с пластиковым держателем прикрепляется водостойким клеем на внешнюю сторону раковины вблизи сердца моллюсков без повреждения створки и соединяется с прибором кабелем. Контроль уровня раскрытия раковины и выдвижение «ноги» определялось визуально.

Моллюски *Sinanodonta sp.* отловлены 27 декабря в канале в Ninh Son, Ninh Hoa, Khanh Hoa в бассейне реки Кай. Определение до вида не производилось. Для эксперимента были отобраны крупные моллюски размером более 10 см, возрастом более 10 лет. Моллюски содержались в больших пластиковых ёмкостях (более 100 литров) с воздушной продувкой и перемешиванием воды с помощью аквариумных помп. Моллюски получали мелкодисперсный органический корм в виде пекарских дрожжей и вываренной моркови. Во время экспериментов животные корм не получали и содержались в аквариумах с объемом воды 13 литров. Суточная температура воды в течение всех экспериментов варьировала в пределах 25-26 градусов, световой режим 12/12 часов.

Во время адаптационного периода содержания в лабораторных условиях явление «замирания» сердечного ритма у *Sinanodonta* не обнаружено, время между сердечными сокращениями в норме составляет 8-10 секунд. Рис.1 Обычно используемый параметр "частота сердечных сокращений" нами в описании не используется из-за неудобств постоянного пересчета. Используется прямой измеряемый кардиографом параметр - длительность интервала времени между сердечными сокращениями.

Используемые реактивы: Исследуемое минеральное удобрение "Thiourea 99" содержит N-35 %, S-40 %. Содержание именно мочевины фирмой не приводится. Навески удобрения "Thiourea 99" рассчитывались с учетом того, что содержание тиомочевины составляет 75 % от общего веса удобрения.

#### **Результаты и их обсуждение**

Исследование влияние тиомочевины на поведение и сердечную ритмику моллюсков рода *Sinanodonta*.

Поскольку данные о влиянии тиомочевины на жизнедеятельность моллюсков рода *Sinanodonta* в литературе отсутствуют, но известно, что концентрация 0,5 г/л оказывала сильное негативное влияние на рыб, мы решили начать эксперимент с такой концентрации, так как моллюски более устойчивы к загрязнению. Были выбраны следующие градации концентраций раствора тиомочевины: 0,5; 1,0; 1,5; 5; 10 г/л.

Для исследования влияния концентрации 0.5 г/л были сформированы контрольная и экспериментальная группы моллюсков, по 3 моллюска в каждой.

До начала воздействия во всех сериях производилась контрольная запись кардиограмм каждого моллюска, поскольку все моллюски имеют индивидуальные кардиограммы, контролем для моллюсков экспериментальной группы могут быть только эти самые моллюски.

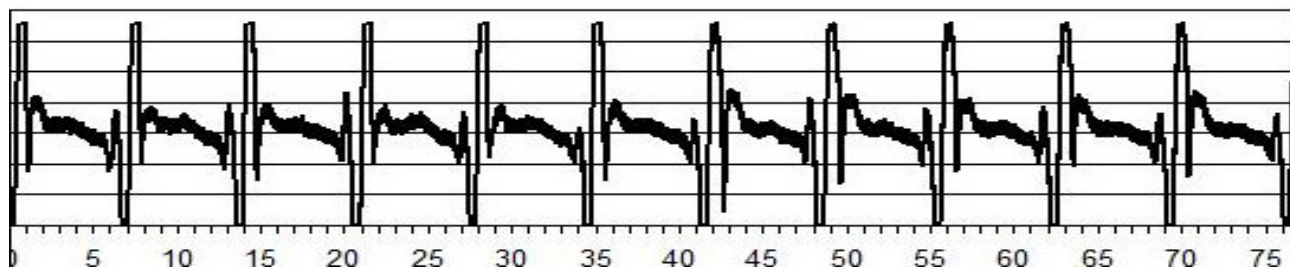


Рисунок 1. Вид оптокардиограмм *Sinanodonta* в чистой воде

В норме время между кардиоимпульсами практически для всех особей составляет 8-10 секунд. Форма кардиоимпульса четкая сигнала, частота стабильная.

Спустя полчаса после начала воздействия раствора с концентрацией 0,5 г/л начались незначительные изменения формы и частоты сердечных сокращений. В экспериментальной группе время между ударами составляет 11-13 сек. Спустя 3 часа все моллюски экспериментальной группы выпустили "ногу", что свидетельствует о намерении к перемещению. Спустя еще 30 минут ритмика экспериментальных животных восстановилась до среднего периода 10 сек, они втянули ногу и закрыли раковину. В дальнейшем в течение 3-х дней происходят небольшие обратимые отклонения в сердечной активности моллюсков. Этот эксперимент показал, что раствор тиомочевины концентрации 0,5 г/л слабо влияет на сердечную активность, только в первые 3 часа. Далее произошла адаптация к данному уровню воздействия. Поэтому на 4-й день эксперимент был прекращен. Слабая реакция моллюсков была для нас неожиданной, ведь тиомочевина является довольно токсичным веществом.

В дальнейшем эксперименты с содержанием моллюсков в растворах с концентрацией тиомочевины 1 и 1,5 г/л проводились в течение 8 суток. Наблюдались реакция на тиомочевину в первые часы, в остальное время интервал между кардиоритмами в экспериментальных группах незначительно превышал показатель в контроле, составлял 10-12 секунд.

При концентрации 5 г/л в начальный период воздействия выявлено резкое нарушение сердечной деятельности. В первый час моллюски резко ускорили частоту сердечных сокращений. Такой "стимулирующий" результат воздействия на сердечную деятельность не наблюдался в предыдущих экспериментах. Кроме того, у некоторых особей наблюдаются необычные паттерны кардиосигнала. Периодически появляется ритмика, когда после кардиоциклов, в которых после 2-х ударов с нормальной частотой и амплитудой следуют 3 удара с малой амплитудой и меньшей длительностью кардиосигнала. Кроме того, у некоторых особей встречается ритм, при котором с частотой примерно в 1 секунду имеется 4 удара с высокой амплитудой с последующей паузой 15-20 секунд.

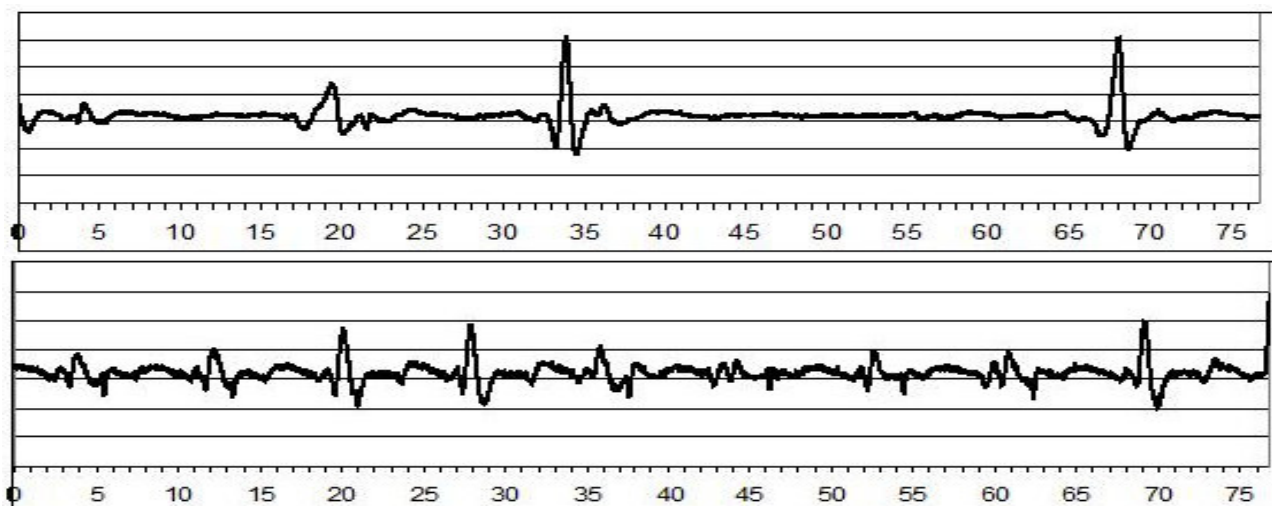


Рисунок 2. Изменения в кардиограммах моллюсков в результате сильных воздействий

В течение 2-х суток после начала воздействия моллюски практически одновременно выпустили ногу. Реакция втягивания при прикосновении к ноге была быстрой. Частота сердечных сокращений увеличивается лишь на короткое время, через 24 часа у всех моллюсков наблюдается резкая брадикардия, частота сердечных сокращений уменьшилась в среднем в 2 раза. Но кардиосигналы имеют высокую амплитуду, форма кардиосигнала не претерпевает существенных изменений. Спустя 72 часа все моллюски ещё живы, реакция на втягивание ноги средняя, все моллюски втянули ногу. У экспериментальной группы моллюсков длительность между ударами увеличилось до 23-25 секунд. При содержании в среде с концентрацией тиомочевины 10 г/л через 96 часов эксперимента все моллюски еще живы, но на третьи сутки наблюдается резкое падение амплитуды сигналов, время между слабыми кардиоимпульсами составляет 25-40 секунд. У всех моллюсков реакция на втягивание "ноги" отсутствует. Полное прекращение сердечной активности наступило спустя 104 часа (4 суток) с момента начала эксперимента и наблюдается гибель всех моллюсков практически одновременно. Отсутствует реакция на втягивание "ноги", раковина свободно открывается.

Регистрируемая высокая устойчивость сердечно -сосудистой и нервной системы моллюсков рода *Sinanodonta* к тиомочевине говорит о высокой степени адаптации популяции моллюсков, обитающих в водотоках, протекающих в регионах, где отсутствует промышленное производство. При концентрации тиомочевины 5 г/л у некоторых особей наблюдается кардиоциклы, в которых после 2-х ударов с нормальной частотой и амплитудой следуют 3 импульса с малой амплитудой. Кроме того, у некоторых особей встречается ритм, при котором с частотой примерно в 1 секунду имеется 4 удара с высокой амплитудой с последующей паузой 15-20 секунд. Это может быть связано с нарушениями работы предсердий. Поскольку работа сердца модулируется нейронами переднего нервного ганглия, мы полагаем, что это может служить маркером начала угнетающего действия на нервную систему моллюска.

#### **Выводы**

1. Моллюски, обитающие в бассейне реки Кай адаптированы к высокому уровню загрязнения органическими удобрениями, в частности тиомочевинной.
2. Влияние тиомочевины при концентрации её раствора 0,5 мг/л, которая оказывает сильное воздействие на рыб, незначительно влияет на нервную и сердечно-сосудистую системы моллюсков. Они более устойчивы к загрязнению. Значительные концентрации тиомочевины 10 г/л приводят к гибели моллюсков в течение 4 суток.

3. При отсутствии загрязнения тяжелыми металлами, хлорорганическими соединениями, фильтранты речных экосистем реки Кай способны выживать, размножаться и выполнять свои функции по очистке воды даже при высоком содержании в воде минеральных и органических удобрений.

#### **Благодарности**

Авторы выражают благодарность академику Павлову Дмитрию Сергеевичу и с.н.с. Павлову Ефиму Дмитриевичу за предоставленную возможность выполнить исследования, а также сотрудникам Приморского отделения Российско-Вьетнамского Тропического Центра Буй Ба Суан (Bui Ba Xuan), Нгуен Нху Хунг (Nguyen Nhu Hung), Филичеву Николаю Леонидовичу за большую помощь в работе.

#### **Литература**

1 Swapna M., Rajasekhar A., Supriya K., Raghuvеer G., Sreenivasulu M.K., Rasheeda K.C., Majumdar H., Kagawa H., Tanaka A., Dutta-Gupta B. Senthilkumaran Thiourea-induced thyroid hormone depletion impairs testicular recrudescence in the air-breathing catfish, *Clarias gariepinus* // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* – 2006. – Vol. 144, No 1. – P. 1-10.

2 Medda A.K., Ghosh R.K. Inhibitory influence of thiourea on brain of singi fish (*Heteropneustes fossilis* Bloch) and subsequent recovery by L-triiodothyronine // *Neurochem Int.* – 1984. – Vol. 6, No 4. – P. 527-532.

УДК 579.66

### **ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НИТРОРЕДУКТАЗЫ В ГЕНЕРАЦИИ СУПЕРОКСИДА С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНОГО LUX-БИОСЕНСОРА**

Мачигов Э.А., Абилов С.К., Игонина Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им Н.И.Вавилова  
Российской академии наук, г. Москва, Россия  
e-mail: elbek\_machigov@mail.ru*

**Аннотация.** Показано, что мутантный по нитроредуктазе штамм биосенсора, несущего промотор гена *soxS*, значительно слабее реагирует люминесценцией на паракват, 4НХО и диоксидин, нежели исходный штамм. Это свидетельствует о том, что нарушение работы нитроредуктазы подавляет генерацию супероксида. Это можно считать доказательством того, что нитроредуктаза играет значительную роль в процессе образования супероксида исследованных химических соединений.

**Ключевые слова:** супероксид, нитроредуктаза, биосенсор, люминесценция.

Многие вещества при попадании в живую клетку вызывают образование активных форм кислорода, к которым относятся ионы кислорода и свободные радикалы. Активные формы кислорода из-за своей высокой реакционной способности являются факторами, наносящими повреждения внутриклеточным структурам вследствие оксидативного стресса. Одним из проявлений такого повреждающего свойства является генотоксичность, т. е. способность вызывать структурные повреждения генетического материала [1]. Супероксид ( $O_2^-$ ) представляет собой анион молекулярного кислорода с зарядом (-). Будучи ионом и свободным радикалом, принадлежит к активным формам кислорода, т. е., является одним из главных факторов окислительного стресса клетки [2, 3]. Увеличение концентрации супероксида в клетке активирует гены ферментов, участвующих в его модификации, главным образом супероксиддисмутазы, катализирующей реакцию дисмутации супероксида с образованием молекул кислорода и перекиси водорода. Одним из факторов, приводящих к образованию



супероксида, является модифицирование некоторых азотсодержащих соединений, например параквата, 4НХО и диоксидина разными группами ферментов. Предполагается, что главную роль в процессе образования супероксида выполняет фермент нитроредуктаза, который катализирует реакции восстановления азотсодержащих соединений [4].

**Цели и задачи.** Целью исследования было изучение роли нитроредуктазы в образовании супероксида в бактериальной клетке при воздействии азотсодержащих соединений, таких как паракват, 4НХО и диоксидин. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи: получение из lux-биосенсора *E. coli* pSoxS мутантного по нитроредуктазе штамма, сравнение люминесцентного ответа мутантного и исходного штаммов на паракват, 4НХО и диоксидин.

#### Материалы и методы

В работе использовали lux-биосенсор *E. coli* K12 MG1655 pSoxS, несущий рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцирующей бактерии транскрипционно слитым с промотором гена супероксиддисмутазы soxS [4], а так же полученный из этого lux-биосенсора мутантный по нитроредуктазе штамм (далее, соответственно pSoxS и pSoxS-NR). Штамм pSoxS-NR получали путем последовательного пересева pSoxS в среды с регулярно увеличиваемой концентрацией нитрофураля (фурацилина) вплоть до 0.00075M.

Измерение люминесценции проводили следующим образом: в 20 мл свежего LB-бульона с 20 мкл ампициллина добавляли 2 мл 16-часовой ночной культуры, с последующей культивацией при 37°C в течение двух часов. Далее культивированный штамм разливали по планшетам с добавлением исследуемого вещества в разных концентрациях, при соотношении объема культуры и вещества 9:1, и культивировали 90 мин при 37°C. Затем, с помощью люминометра считывали интенсивность люминесценции в условных единицах. Методы тестирования веществ на lux-биосенсорах описаны [1-3]. Вещества брались в семи разных концентрациях в следующих диапазонах: паракват (0.000001M - 1M), 4НХО (0.0001M - 0.0064M), диоксидин (0.00005M - 0.045M).

#### Результаты

Под действием диоксидина pSoxS проявлял люминесцентную активность, усиливающуюся с увеличением концентрации диоксидина вплоть до 0.005M, а при дальнейшем увеличении концентрации идущую на убыль. Люминесценция при пиковой концентрации в 0.005M диоксидина была в 1.8 раз выше фоновой. pSoxS-NR показал обратный результат, ослабляя интенсивность люминесценции с ростом концентрации диоксидина (рис. 1).

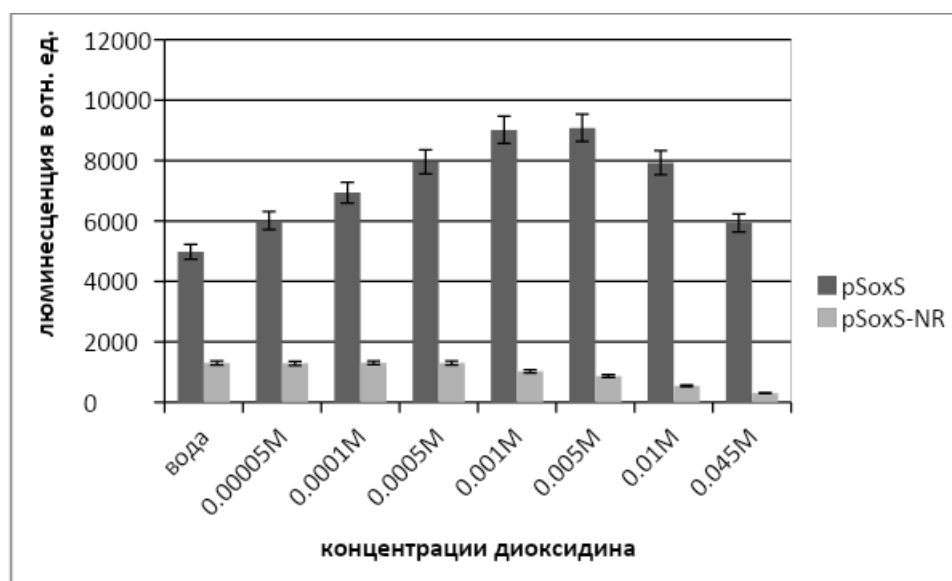


Рисунок 1. Люминесценция pSoxS-NR и pSoxS с диоксидином

Паракват показал немного другой результат, значительно усиливая люминесценцию pSoxS с повышением концентрации вплоть до 0.001M, и лишь незначительно усиливая люминесценцию pSoxS-NR. При пиковой концентрации параквата в 0.001M люминесценция pSoxS в 6.2 раза выше фоновой, а при дальнейшем увеличении концентрации люминесценция штамма ослабевает. Для pSoxS-NR пиковой концентрацией является 0.01M, при которой люминесценция всего лишь в 1.6 раз выше фоновой (рис. 2).

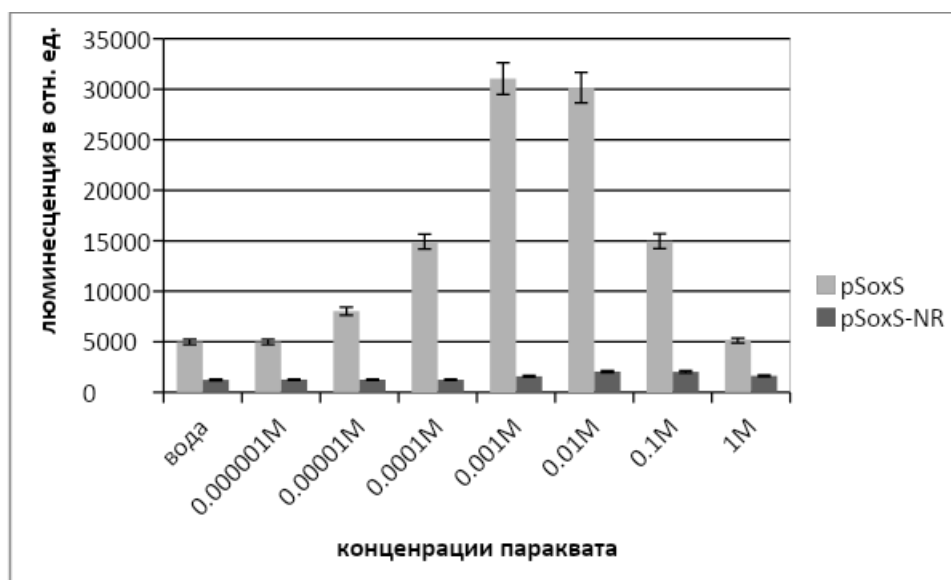


Рисунок 2. Люминесценция pSoxS-NR и pSoxS с паракватом

Аналогичный результат показал 4НХО, значительно усиливая люминесценцию pSoxS с повышением концентрации вплоть до 0.0008M, и лишь незначительно усиливая люминесценцию pSoxS-NR. При пиковой концентрации 4НХО в 0.0008M люминесценция pSoxS в 2.9 раза выше фоновой, а при дальнейшем увеличении концентрации люминесценция штамма ослабевает. Для pSoxS-NR пиковой концентрацией является также 0.0008M, при которой люминесценция всего лишь в 1.6 раз выше фоновой.

### Заключение

Исследование показывает, что такие азотсодержащие соединения, как паракват, диоксидин и 4НХО вызывают значительно более низкую люминесцентную активность мутантного по нитроредуктазе штамма lux-биосенсора *E. coli* K12 MG1655 (pSoxS-NR), реагирующего на супероксид, в сравнении с исходным штаммом (pSoxS). Это можно рассматривать как доказательство того, что нитроредуктаза, мутантным по которой является pSoxS-NR, играет важную роль в процессе генерации супероксида при воздействии данных веществ на бактериальную клетку.

### Литература

- 1 Котова В.Ю., Манухов И.В, Завильгельский Г.Б. Lux-биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса // Биотехнология. - 2009. - №6. - С. 16 - 25.
- 2 Игонина Е.В., Марсова М.В., Абилев С.К. Lux-биосенсоры: скрининг биологически активных соединений на генотоксичность. // Экологическая генетика. - 2016. - №4. - С. 52 - 62.
- 3 Свиридова Д.А., Э.А. Мачигов Э.А., Игонина Е. В. и др. Изучение механизма генотоксичности диоксидина с помощью lux-биосенсоров *Escherichia coli* // Радиационная биология. Радиоэкология, - 2020, - т. 60, - № 6, - С. 595 - 603.

4 Race P.R., Lovering A.L., Green R.M. et al. Structural and mechanistic studies of Escherichia coli nitroreductase with the antibiotic nitrofurazone //J Biol Chem. - 2005; - 280: - 13256 - 13264.

УДК 602.6: 633.91 (574)

**ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЯХ И НАКОПЛЕНИЕМ КАУЧУКА В КОРНЯХ ТАУ-САГЫЗА (*SCORZONERA TAU-SAGHYZ*)**

Муталханов М.С., Альнурова А.А., Сисемали К.Р., Акильбекова А.И., Басыгараев Ж.М., Фалеев Д.Г., Богуспаев К.К.

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
e-mail: mutalkhanov2010@gmail.com*

**Аннотация.** Тау-сагыз, эндемичное растение Казахстана, относящееся к роду *Scorzonera* (козельцов), корни которого пронизаны крепкими эластичными нитями каучука, представляет собой объект исключительного интереса. Однако, Тау-сагыз обладает слабой конкурентоспособностью по сравнению с другими растениями, произрастающими рядом с ним, а интенсивное освоение территорий ведет к еще большему сокращению численности редкого растения. Поэтому встал вопрос о восстановлении тау-сагыза, об изучении его потенциальных возможностей, изменении его свойств с использованием современных методов молекулярной биологии для введения его в культуру как альтернативный источник каучука. В данном исследовании проводился анализ корреляции по морфологическим и биохимическим признакам популяций тау-сагыза, связанных с накоплением каучука. Данные показали, что ни один из пигментов в листьях не связан с накоплением каучука в корнях *Scorzonera tau-saghyz*.

**Ключевые слова:** *Натуральный каучук, хлорофилл, тау-сагыз.*

Натуральный каучук (НК) - это растительный полимер, обладающий свойствами, которые невозможно заменить синтетическим каучуком. НК - это биополимер, который накапливается в латексе более чем 2500 видов растений. За последнее десятилетие произошло значительное увеличение производства НК, которое в 2016 году достигло 12,4 млн тонн, а спрос достиг 12,6 млн тонн, то есть дефицит составил почти 200 тыс. тонн. Ожидается, что мировое потребление каучука будет постоянно расти из-за растущих потребностей развивающихся стран, таких как Китай, Индия и Бразилия [1, 2]. Следует отметить, что из почти 2500 видов таких растений лишь несколько видов способны производить значительную массу высокомолекулярного каучука [1].

Производство натурального каучука является сложным процессом, требующим большого количества углерода. Биосинтез натурального каучука может служить защитной цели путем превращения в каучук избытка сахаров и других веществ, образующихся в процессе фотосинтеза. Однако до сих пор неизвестно, поступает ли углерод для биосинтеза каучука непосредственно из фотосинтетического аппарата растения или из смешанного пула углеводов внутри растения. Этот вопрос был исследован группой Талера Филиппа [3] в 2016 году. Для исследования этого вопроса они использовали изотопы углерода и в частности изотоп  $^{13}\text{C}$ , который широко используется в науке о растениях в качестве индикатора. В эксперименте они использовали углекислый газ, меченый  $^{13}\text{C}$ , чтобы отслеживать путь углерода через флоэму. Применение этого метода позволило им отслеживать распределение углерода в различных органах и тканях, предоставляя информацию об ассимиляции и использовании углерода. В результате своей работы они пришли к выводу, что латексный углерод, который используется во время биосинтеза каучука, происходит не непосредственно

из фотосинтеза, а из смешанного пула углеводов в растении [3]. Это исследование показало, что запасённые углеводы, такие как крахмал, участвуют в доставке углерода в виде сахарозы в млечники растения.

В нашей лаборатории на протяжении последних 6-7 лет ведется разработка Тау-сагыза в качестве источника отечественного натурального каучука в Казахстане, которая могла бы обеспечить безопасность поставок стратегического сырья, вытеснить нефтяные материалы в производстве шин, и создать зеленые рабочие места в сельском хозяйстве.

Экстракцию хлорофилла проводили по методике, описанной D. Aron [4]. Для определения содержания каучука в образцах Тау-сагыза, брали навеску сухих измельченных корней (4г). Для определения степени связи между накоплением фотосинтетических пигментов в листьях и накоплением каучука в корнях использовали коэффициент линейной корреляции  $r$ -Пирсона.

В результате исследований пигментов тау-сагыза было установлено, что содержание пигмента в листьях не коррелирует с накоплением каучука в корнях. Это происходит несмотря на четкую корреляцию между содержанием хлорофилла, а, б, общ. и каротиноидов в листьях *Scorzonera tau-saghyz*. Одной из причин отсутствия корреляции может быть тот факт, что существует прямая конкуренция за органические соединения между процессами накопления биомассы и накопления каучука. Принимая во внимание тот факт, что каучук является вторичным метаболитом, становится ясно, что накопление биомассы будет иметь первостепенное значение для организма. Более того, поскольку образцы листьев и корней поднимались в фазу цветения тау-сагыза, в следствие чего затратный процесс образования каучука мог быть подавлен. Тем не менее, Культиасов Н.А. [5] указывает на несколько фаз развития тау-сагыза, одна из которых - фаза покоя, во время которой накопление биомассы в организме тау-сагыза резко уменьшается. Предполагается, что на этом этапе накопление каучука будет увеличено из-за отсутствия конкуренции за органические соединения.

Второй возможной причиной отсутствия прямой корреляции может быть тот факт, что органические соединения, участвующие в синтезе натурального каучука, поступают не непосредственно из фотосинтетического аппарата, а из накопительных соединений, таких как крахмал. Это означает наличие только косвенной связи между содержанием пигментов и содержанием каучука.

### *Литература*

- 1 van Beilen J.B., Poirier Y. Guayule and Russian dangelion as alternative sources of a natural rubber // Crit.Rev.Biotechnol. – 2007. - № 27. – P. 217-231.
- 2 van Beilen, J.B. and Poirier, Y. Production of renewable polymers from crop plant // Plant J. – 2008. - № 54. – P. 684–701.
- 3 Thaler Philippe, Duangngam Onouma, Kasemsap Poonpipope, Sathornkich Jate, Chayawat Chompunut, Satakhum Duangrat, Priault Pierrick, Desalme Dorine, Chantuma Pisamai, Ghashghaie Jaleh, Epron Daniel. The source of latex. Tracing carbon from leaf photosynthesis to latex metabolism in rubber trees using carbon stable isotopes // CRRI and IRRDB International Rubber Conference. - 2016. – P. 260-268.
- 4 Pongsathit, S., Pattamaprom, C. Irradiation grafting of natural rubber latex with maleic anhydride and its compatibilization of poly(lactic acid)/natural rubber blends // Radiat. Phys. Chem. – 2018. - №144. – P.13–20.
- 5 Культиасов М.В. Тау-сагыз и введение его в культуру. – Ленинград: Издательство Академии наук СССР. - 1938. - 412 с.

УДК 57.085

### ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ ЯБЛОНИ СИВЕРСА

Махамедова Б.Ж., Абишева Г.Ж.

*Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан  
e-mail: baglan.makhamedova@kaznau.kz*

**Аннотация.** В статье проанализированы итоги наблюдений за прохождением основных фенологических фаз яблони Сиверса в условиях Жонгар-Алатауского государственного национального природного парка, растущих на разных высотах: 1200-1500. Исследования показали, что дикие яблони на территории Жонгар-Алатауского природного парка проходят все стадии сезонного развития, отличаются продолжительным цветением, хорошей зимостойкостью.

**Ключевые слова:** яблоня Сиверса, плоды, фенология, наблюдения, вегетация, насаждения, резерваты.

В связи с глобальными изменениями климата остро стоят проблемы изучения биологического разнообразия, в том числе и разнообразия дикорастущих форм яблонь. Плоды лучших форм дикой яблони не уступают по качеству некоторым районированным сортам. Генофонд дикой яблони может служить основой для создания зимостойких, засухоустойчивых, устойчивых к болезням и вредителям сортов. Использование диких яблонь в культуре дает народному хозяйству тысячи тонн ценного пищевого продукта – яблок.

В этой связи Жонгар-Алатауском национальном парке особое внимание уделяется сохранению и восстановлению уникальных яблоневых лесов в т.ч. яблони Сиверса, которая является прародительницей всех культурных сортов яблони мира – источником генетических ресурсов мирового значения.

Дикая яблоня растет высоко в горах, наиболее обильные популяции на северных склонах 1200-1600 м. над уровнем моря и по речным террасам. В Заилийском Алатау встречается на высоте от 900 до 1800 м., в Джунгарском Алатау – 1200-1500 м. В связи с этим имеет такие гены, которые отвечают за морозостойкость, за адаптированность к суровым климатическим условиям. Именно это делает ее уникальной, как генетический ресурс. На территории Жонгар-Алатауского природного парка находится пять генетических резерватов (охраняемые природные зоны) яблони Сиверса. Дикие яблони растут в экологически чистых природных условиях. На вкус они – от кислых до сладких, по цвету – от розоватых до ярко-красных. В августе–сентябре яблоки наливаются соком и цветом. Высота плодовых деревьев – от 2 до 8 метров

Американские исследователи, побывавшие в парке, нашли дикую яблоню Сиверса, которой, по их оценке, 180 лет, и это далеко не ее возрастной предел. Для сравнения: продолжительность жизни домашней яблони – 50-70 лет. В сезон одна дикая яблоня может давать урожай до 200 кг.

В конце прошлого века академиком А. Джангалиевым было организовано несколько международных экспедиций в Заилийский и Джунгарский Алатау, которые дали совершенно ошеломляющие результаты. Молекулярно-генетическое исследование гермоплазмы, увезенной учеными Англии, США, Франции, Германии и Канады однозначно подтвердили, что наша дичка послужила источником – прародителем большинства культурных сортов яблони, число которых в мире составляет около 15000. По Великому Шелковому пути яблоня распространилась сначала в Ирак и Турцию, затем в Европу и по всему миру.

Угроза сокращения площадей садов дикой яблони Сиверса в Джунгарском Алатау, к сожалению, сохраняется. Однако отечественные ученые не унывают, тем более сейчас, когда появилась реальная поддержка и уже не только со стороны иностранных специалистов, которые, к слову, давно увлечены темой уникальной яблони, но и местных. Кроме того,

Елбасы в своей статье «Семь граней Великой степи» четко обозначил значимость яблони Сиверса и необходимость ее сохранения. Еще в 30-е годы XX века великий ученый, автор теории о центрах происхождения культурных растений Николай Иванович Вавилов высоко оценил яблоню Сиверса, как селекционно-генетический материал для выведения новых сортов яблонь. Все усилия по сохранению и преумножению уникального растения, которое с одной стороны находится под угрозой исчезновения, а с другой – с ним связывается будущее мировой яблочной индустрии и продовольственной безопасности, будут напрасными, если в его защиту не включится государство со своим инструментарием: законами, разрешениями, ответственностью. Конечно, нельзя сбрасывать со счетов и другие инструменты: формирование экологического сознания, деятельность неправительственных организаций, усилия ученых. Но государству в нашей политико-правовой реальности – отводится особая роль.

Основанием для этого утверждения является создание и успешная работа Жонгар-Алатауского государственного национального природного парка, деятельность которого направлена на сохранение этих уникальных природных комплексов и регулирование использования природных ресурсов. И наш регион действительно является важным центром сосредоточения горного агробиоразнообразия. Причем 1,05% от общей площади парка занимают дикоплодовые насаждения яблони Сиверса, которая является прародительницей всех культурных сортов яблонь мира и требует особой охраны, чтобы обеспечить сохранение и восстановление уникального агробиоразнообразия плодовых лесов глобального значения.

В пределах естественного ареала яблони Сиверса характеризуется поразительным внутривидовым разнообразием. Уникальные природные условия определили необычайное богатство морфологических и биологических признаков. В яблоневом лесу можно найти деревья с плодами самого различного вкуса, расцветок, размеров. Дикая яблоня ценна тем, что ей несколько десятков тысяч лет. Она, под воздействием изменяющейся природной среды, формировалась как вид, приспосабливаясь к различным факторам: к перепадам температуры, вредителям и болезням.

Яблоня Сиверса – уникальный исходный ботанико-географический и селекционно-генетический материал, и значение ее генофонда вышло далеко за пределы региона, неслучайно так велик интерес к ней зарубежных ученых. Одно из угроз для такого уникального генофонда представляют периодическая вспышка массового размножения вредителей и эпифитотия болезней, которые нередко случаются в этом регионе.

Периодические вспышки массового размножения вредителей и эпифитотия болезней являются следствием влияния антропогенных факторов и отсутствия постоянного детального мониторинга фитосанитарного состояния лесов, что в конечном итоге приводит к нарушению биологического равновесия, когда резко меняется соотношение численности полезных видов и вредителей. Известно, что при отсутствии или ослаблении биологического контроля за развитием вредителей в биоценозах происходят серьезные изменения, которые, как правило, приводят к массовому распространению тех или иных видов вредных организмов.

На развитие и распространение вредных организмов, а также прохождение растениями фенологических фаз развития, как известно большое влияние оказывают погодные условия.

Фенологические наблюдения являются наиболее доступными и эффективными методами изучения особенностей развития растений в определенных экологических и климатических условиях, позволяя установить сроки их вегетации, продолжительность отдельных фенофаз, а также устойчивость и продуктивность различных сортов и особей [3].

В 2018 году было изучено современное состояние насаждений яблони Сиверса на территории Жонгар-Алатауского ГНПП, а именно на участках генетических резерватов. Фенологические наблюдения проводились на мониторинговых площадках в генетических резерватах Пихтовая и Солдатская щель – Тополевский ИУ Саркандского филиала, ур. Крутое, ур. Черная речка – Черновский ИУ Лепсинского филиала.

Таблица 1. Фенологические фазы яблони Сиверса, 2019 год

Дата Ущелье	Набухание почек	Распускание почек	Развертывание листьев	Цветение, начало	Массовое цветение	Цветение, конец	Созревание, начало	Созревание, полное	Осенняя окраска, начало	Осенняя окраска, полная	Листопад, начало	Листопад массовый	Листопад, конец
Тополевский ИУ	10.0 4	15. 04	20.0 4	29.0 4	04. 05	26. 05	23.08	10. 09	19.0 9	27.09	03.1 0	14. 10	21. 10
Пикетная	12.0 4	19. 04	24.0 4	12.0 5	19. 05	29. 05	26.08	22. 09	26.0 8	03.10	27.0 9	03. 10	24. 10
Крутое	04.0 4	10. 04	27.0 4	03.0 5	21. 05	25. 05	29.08	24. 09	30.0 8	25.09	30.0 9	05. 10	17. 10
Черная речка	19.0 4	25. 04	30.0 4	07.0 5	11. 05	26. 05	25.08	15. 09	10.0 9	25.09	03.1 0	10. 10	24. 10
Пихтовая, Со лдатская	17.0 4	29. 04	29.0 4	10.0 5	18. 05	27. 05	20.08	10. 09	12.0 9	23.09	10.1 0	12. 10	02. 11

Как видно из данных таблицы самый короткий период вегетации наблюдался в ущелье Крутое, здесь набухание почек было 04.04, конец листопада происходил 17.10. В то время как в ущелье Пихтовая наблюдалось запаздывание фенофаз на 13 и 15 дней соответственно.

Установлено, когда у древесных растений наблюдается раннее начало и окончание вегетации, то можно судить об относительно высокой зимостойкости; позднее начало и завершение вегетации указывают на их низкую зимостойкость.

Нами были изучены фенологические фазы яблони Сиверса, растущих на разных высотах Жонгарского Алатау: 1200-1500.

Таблица 2. Фенологические фазы яблони Сиверса на высотах 1200-1500 м н.у.м.

Яблоня Сиверса, высота, м	Набухание почек	Распускание почек	Развертывание листьев	Цветение начало	Цветение массовое	Цветение конец	Созревание начало	Созревание полное	Осенняя окраска начало	Осенняя окраска полная	Листопад начало	Листопад массовый
1200 м Лепсинский ИУ	05.04	07.04	11.04	16.04	01.05	25.05	13.08	02.09	26.08	30.08	16.09	26.09
1250 м Лепсинский ИУ	12.04	20.04	15.05	22.04	10.05	21.05	28.08	15.09	16.09	20.09	25.09	08.10
1300 м Черновский ИУ	09.04	10.04	11.04	12.04	27.04	20.05	23.08	02.10	17.09	20.09	23.09	05.10
1300 м Черновский ИУ	30.03	05.04	10.04	15.04	28.04	27.05	05.09	23.09	20.09	25.09	27.09	07.10
1350 м Жаланашский ИУ	02.04	10.04	12.04	15.04	30.04	17.05	15.09	25.09	17.09	23.09	30.09	02.10
1400 м Лепсинский ИУ	08.04	10.04	14.04	17.04	26.04	15.05	20.08	10.09	15.09	20.09	25.09	30.09
1500 м Лепсинский ИУ	02.04	08.04	09.04	14.04	27.04	15.05	23.08	05.09	10.09	20.09	17.09	26.09
1500 м Черновский ИУ	15.03	23.03	11.04	14.04	20.04	15.05	28.07	05.09	15.09	22.09	25.09	30.09

Из таблицы видно, что набухание почек – начало вегетации – проходит с конца марта до середины апреля. Причем в верхнем подпоясе эта фаза проходила быстрее примерно на 10 дней.

Начало цветения яблони отмечается во второй – третьей декадах апреля, конец цветения – 15 – 27 мая. Созревание плодов начинается в зависимости от сорта яблони, у ранних сортов это 28 июля, у поздних – 15 сентября. Оценка урожайности плодов составила на участках 4 балла, т.е. хороший урожай (обильное плодоношение на большинстве деревьев).

Таким образом, исследования показали, дикie яблони на территории Жонгар-Алатауского природного парка проходят все стадии сезонного развития, отличаются продолжительным цветением, хорошей зимостойкостью. Кроме того, из приведенных данных можно сделать вывод о значительном сортовом разнообразии яблони по фенологическим показателям, среди них есть с ранним началом и окончанием вегетации, что позволяет избежать обмерзание вегетирующих побегов и генеративных органов.

### *Литература*

1 Н.Назарбаев. Статья Главы государства РК «Семь граней Великой степи» 21 ноября 2018.

2 Муқанова Г.С., Санкайбаева А.Г., Шадманова Л.Ш., Куджабергена Ш.Н. Сортоклоны яблони сиверса как перспективный источник натуральных антиоксидантов. Плодоводство и ягодоводство России. 2017;49:241-244.

3 Садыгов А.Н. Фенология сортов яблони селекции Азербайджанского НИИ садоводства и субтропических культур в агроклиматических условиях Куба–Хачмасской зоны Азербайджанской республики // Аграрный научный журнал. 2014. № 8. С.38-40.

ӘОЖ 62.01

### **ФОСФАТМОБИЛИЗДЕУШІ МИКРОАҒЗАЛАР ШТАМДАРЫН БӨЛІП АЛУ, ЗЕРТТЕУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ БИОТЫҢАЙТҚЫШТАР ДАЙЫНДАУДА ҚОЛДАНУ**

А.К.Мухтаров<sup>1</sup>, Б.М.Мырзабаев<sup>1</sup>, А.Б.Кален<sup>1</sup>, Д.Нұрқайыр<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан

e-mail: [abilkhas@mail.ru](mailto:abilkhas@mail.ru)

**Аннотация.** Мақалада фосфатмобилиздеуші микроағзалар штамдарын бөліп алу және зерттеу үрдістері берілген. Топыраққа жүргізілген сараптамалар нәтижесі алынған 9 сынама үлгілерінде микроағзалар өсуіне қажетті азот, гумус және жылжымалы фосфор қосылыстары жеткілікті мөлшерде екендігін көрсетті. Фосфатмобилиздеуші микроағзаларды бөліп алу соңында 23 моноизолят таңдап алынды. Колбалар инкубациясынан кейін культуралды сұйықтықтағы еріген фосфор мен рН-қа сараптама жасалды.

**Кілттік сөздер:** азық-түлік қауіпсіздігі, тыңайтқыштар, фосфатмобилиздеуші бактериялар, идентификация, топырақ сынамалары, штамдар.

Егеменді еліміздің агроөнеркәсібі жүйесі алдындағы негізгі бағыттардың бірі – азық-түлік қауіпсіздігінің тұрақты, қалыпты жүйесін құру, агробизнесті дамыту, импортталатын азық түрлерін азайту және отандық өнімдердің бәсекеге қабілеттілігін арттыру. Ауылшаруашылық секторының өнімділігін арттырудағы бірегей бағыттардың бірі органикалық тыңайтқыштардың, минералды компоненттердің үйлесімді мөлшерін енгізу, топырақты пайдалы микрофлорамен байыту арқылы пайдаланылатын жерлердің өнімділігін арттыру болып табылады.



International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Бұл бағыттағы жұмыстар өте күрделі әрі көп сатылы. Шешуін күттірмейтін маңызды іс-шараларға өңделінетін жерлердің экологиялық қауіпсіз жүйелерін жасақтау және ендіруді жатқызуға болады. Топырақ құнарлығын жақсартуға бағытталған биологиялық препараттар дайындау үнемі дамып келеді: болашағы зор микроағзалар анықталып, олардың негізінде тиімді биопрепараттар нарыққа шыға бастады.

Осы үрдістердің тиімді және экологиялық тұрғыдан қауіпсіз жолы – топырақтағы күрделі қосылыстардан фосфордың мобилизденуін күшейтетін бактериялық препараттарды пайдалану.

Аталған мәселелерді шешу жолында жұмысымыздың негізгі мақсаты – биологиялық тыңайтқыштар жасақтауда фосфатмобилиздеуші микроағзалар белсенді штамдарын бөліп алу және идентификациялау.

Зерттеу әдістері.

Зерттеу объектісі ретінде ЖШС «Biolife» (Ақмола обласы, Степногорск қ.) аймағынан еркін тіршілік ететін фосфатмобилдеуші бактериялар штамдары алынды. Топырақ сынамалары ГОСТ 28168–89 бойынша өткізілді [1,2], ал сынамадағы гумус мөлшері — топырақ сапасын анықтау әдістері арқылы анықталды [3]. Қажетті ағзаларды бөліп алу жұмыстары NBRIP-BPB тығыз қоректік ортада және NBRIP сұйық ортада жүргізілді [4]. Ерітіндідегі фосфор концентрациясын анықтауда Biomate 3 (Thermo Fischer Scientific) спектрофотометрінде спектрофотометрлік әдіс [5], титрге NBRIP қоректік ортасы қолданылды. Микроағзалардың сандық есебі Кох егу әдісімен жүргізілді [6]. Зерттелініп отырған ерітінділер шамасы Mettler Toledo SevenMulti көпканалды рН метр көмегімен анықталды.

Бактериялар идентификациясын морфологиялық, культуральдық және физиологиялық ерекшеліктері негізінде «Берджи бактериялар анықтағышын» пайдаланып, іске асырылды. Алынған нәтижелер Стьюдент критерийін пайдаланып өңделді.

Нәтижелер.

Топырақ құрамындағы фосфатмобилиздеуші микроағзаларды бөліп алуды аталған аймақтағы жерлерден алынған 9 сынама бойынша жүргізілді. Төмендегі 1-кестеде іріктелген сынамалар сараптамасының мәліметтері көрсетілген.

Кесте 1. Топырақ сынамалары сараптамаларының нәтижесі

Сынама №	рН	Ылғалдылық, %	Жалпы N, %	Гумус, % (құрамы)	P жылжымалы қосылыстары, мг/кг (құрамы)
1	7,9	5,4	0,3605	6 (орташа)	113 (жоғары)
2	6,65	2,5	0,1413	2,5 (төмен)	99 (орташа)
3	6,34	2,1	0,1684	2,4 (төмен)	113 (жоғары)
4	6,25	2,4	0,4473	3,4 (төмен)	95 (орташа)
5	6,36	2,4	0,2413	2,7 (төмен)	139 (жоғары)
6	7,79	5,2	0,4315	6,4 (жоғары)	93 (орташа)
7	8,0	4,6	0,3789	5,5 (орташа)	2,8 (өте төмен)
8	6,93	3,8	0,0063	3,2 (төмен)	21 (өте төмен)
9	6,81	4,0	0,2284	3,2 (төмен)	27 (төмен)

Топырақ сараптамаларына сай іріктелген үлгілерде микроағзалар дамуына қажет жалпы азот, гумус және жылжымалы фосфор қосылыстары жеткілікті мөлшерде кездеседі.

Жұмыстың нәтижесі бойынша айтарлықтай фосфатмобилиздеуші белсенділік *Bacillus megaterium* FT1 штамдарында анықталды және 120 сағат ішінде 100 % фосфорды

еріткен. Ал *Bacillus sp.* FT2 және *Serratia plymuthica* N11 штамдарындағы еріген фосфор шығымы 168 сағат ішінде 50,0 және 54,2 % ды құрады. Еріген фосфор концентрациясы ортаның рНы төмендеуіне байланыстылығы байқалды. Жұмыс соңында *Bacillus megaterium* FT1 және *Serratia plymuthica* N11 белсенділік көрсеткен штамдары органикалық биотыңайтқыш жүйелерін құру мақсатында таңдап алынды.

Фосфорды мобилиздеуде бактериялардан түзілген қышқыл есебінен орта рН төмендеуі басты роль атқарады. Фосфордың ең көп еруі рН шамасы 6,0 дан төмен болғанда байқалды.

#### **Қорытынды.**

Органикалық өнім өсіру және топырақтың құнарлылығын арттыру үшін органикалық тыңайтқыштар құру мақсатында еркін тіршілік ететін фосфатмобилиздеуші бактериялар бөлініп алынды және олардың белсенділігі зерттелінді. Штамдар ішінен фосфатмобилиздеуші бактериялардың *Bacillus megaterium* FT1 және *Serratia plymuthica* N11 екі штамы іріктеліп алынды.

Нәтижесінде *Bacillus megaterium* FT1 жаңа штамы ең жоғарғы фосфатмобилиздеуші белсенділік көрсетті, ол 120 сағат ішінде ортадағы фосфорды 100 % ерітті. *Bacillus spp.* FT2 және *Serratia plymuthica* N11 штамдарында еріген фосфор шығымы 168 сағат бойы сәйкесінше 50,0 және 54,2 % ды құрады.

#### **Әдебиеттер**

- 1 ГОСТ 28168–89. Почвы. Отбор проб.
- 2 ГОСТ 26425–85. Почва. Метод определения ионов хлорида в водной вытяжке.
- 3 Александрова Л.Н. Лабораторно-практические занятия по почвоведению / Л.Н. Александрова, О.А. Найденова. -Л.: Наука, 1986. - 224 с.
- 4 Yasmin H. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of weeds of khewra salt range and attock / H. Yasmin, A. Bano // Pakistan Journal of Botany. - 2011.- № 3.- P. 1663–1668.
- 5 ГОСТ 26211–91. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора по методу Аррениуса в модификации ВИУА.
- 6 Нетрусова А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусова. - М.: Академия, 2005. - 608 с.

ӘОЖ 636.2.034

### **ПРЕБИОТИКПЕН БАЙЫТЫЛҒАН СИЫР СҮТІНІҢ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОЦЕСІН ЗЕРТТЕУ**

Нармуратова Ж.Б., Жүнісбекова Д.Ш., Камалдинова Ұ.Р., Шакерова А.,  
Нармуратова М.Х.

*әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан*  
*e-mail: Janarka.90n@mail.ru*

**Аннотация.** Жаңа сауылған сиыр сүтінен салыстырмалы түрде әртүрлі үлгі алынды. Алынған үлгілердің коректік орталары және микроорганизмдері әртүрлі болып келеді. Соңғы алынған өнімнің органолептикалық қасиеттері: өзіне тән иісі, дәмі, консистенциясы бар. Зерттеу нәтижесінде, бифидо – және лактобактерия консорциумы және өсу факторы ретінде алынған инулин бар үлгі ерекше көзге түсті. Алынған өнімнің, қышқыл тұзу қасиеті мен қоюлану жылдамдығы және органолептикалық көрсеткіштері бойынша ерекшелігі айқындалды.

**Кілтті сөздер:** сүт, ферментация, пребиотик

Сүт – екі жүзден астам органикалық және минералды заттардан құралған биологиялық сұйықтық. Сүттің тағамдық құндылығы – адам организміне қажетті заттар (су, белок, май, көмірсу, витаминдер мен минералды заттар т.б.) жақсы тепе-теңдік қатынасымен, ағзаға жеңіл сіңірілетін күйде болуымен бағаланады. Сүттен алынатын өнімдерде организмге қажетті органикалық заттардың құрамы мен қатынасы жақсы үлестірілген. Сүттің организмде сіңімділігі 96-98%. FAO-ның қортындысы бойынша, сүттің энергетикалық құндылығы жануарлардың түріне байланысты [1-5].

Адам ағзасындағы табиғи микробиоценоздың ролы көпшілікке белгілі. Ағзада бифидобактериялар мен лактобациллалардың ішекте қалыпты деңгейде болуы ағзаның саулығын қалыптастыруда маңызды. Патогенді микроорганизмдердің ағзаға енуіне және ағзаға кірген жағдайда олардың өмір сүруіне кедергі келтіреді. Қалыпты микрофлораны түзушілер биологиялық активті және антибиотик тәріздес заттар түзуімен ерекшеленеді [6-11]. Қазіргі уақытта, ағзаның дұрыс жұмыс жасауы мен бактериялық, вирустық ауруларға ағзаның қарсы тұру қабілетін жақсарту үшін функционалды тағам өнімі ретінде пребиотиктік - қасиеті бар сүт тағамын дайындау өзекті мәселе болып тұр. Біздің зерттеулерімізде сиыр сүтін ұйытатын *Lactobacillus acidophilus* пен инулиннің әсері зерттелді.

#### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

*Зерттеу объектісі:* Зерттеу жұмысы әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-ті, биология және биотехнология факультеті, биотехнология кафедрасының «Тағам биотехнологиясы» зертханасында жүргізілді. Алматы облысы, Ұзынағаш ауылынан сиыр сүті зерттеуге алынды. Зерттеуде қолданылған сүт қышқылды бактериялар және пребиотиктер: *Lactobacillus acidophilus* (L.b.); *Bifidobacterium bifidum*(B.b.)

*Қышқылдылықты анықтау.* Тернер әдісі бойынша анықталды. Тернер ( $^{\circ}T$ ) әдісі 100 мл сұйық объектіні бейтараптауға жұмсалған 0,1 н сілті ерітіндісінің мөлшерін көрсетеді. Сыйымдылығы 100 мл колбаға зерттеуге алынған объектіден 10 мл алып, 20 мл дистильденген су қосып, араластырылды. Дайындалған ерітіндінің индикатор ретінде 1%-дық фенолфталеиннің спирттегі ерітіндісі қосылды. Қоспаны 0.1н сілті ерітіндісімен әлсіз қызғылт түске дейін титрленеді. Әлсіз қызғылт түс 1 минуттай түсін өзгертпеу керек.

Титрлеуге жұмсалған сілті ерітіндісінің мөлшерін төмендегі формуламен есептелінеді.

$$^{\circ}T = V * 10$$

V - фильтратты титрлеуге кеткен 0,1н сілті ерітіндісінің мөлшері

*Сүт анализаторында ЛАКТАН 1-Анықтау.* Сиыр сүтінің құрамындағы майлылығы, тығыздығы, құрғақ сүт қалдығы бірнеше қайталама жасау арқылы проценттік көрсеткіші анықталды.

#### **Алынған нәтижелер мен талқылау**

Жаңа сауылған сиыр сүтінің қышқылдығы  $17^{\circ}T$ . Сүтті сақтау барысында микроорганизмдердің көбеюіне байланысты сүттің титрлену қышқылдығы жоғарылайды. Қышқылдықтың жоғарлауы сүт қасиеттерінің өзгеруіне алып келуі мүмкін, егерде, сүттің қышқылдығы  $22^{\circ}T$  жоғары болса, оны зауыттарға өткізуге жарамсыздықты көрсетеді.

Сүт қышқылды өнімдерді алуда негізгі міндет *Lactobacillus acidophilus* штамдарын таңдап алу. Оларды сұрыптап алу кезінде микроорганизмдердің көбеюіне тікелей әсер ететін және сүт қышқылды ашу процесін интенсивті жүруін қамтамасыз ететін культивирлеу жағдайын реттеу маңызды. Әдебиеттерде келтірілген мәліметтерде, *Lactobacillus acidophilus* патогенді микроорганизмдерге қарсы тұра алатын антагонистік қасиеті туралы айтылады. Ұйытқы құрамындағы микроорганизмдердің әсірен түзілетін антибактериалдық қасиеті бар сүт өнімдерінің сақталу мерзіміне де айтарлықтай әсер етеді. Ферментативті сүт өнімдері үшін ұйытқыларды дұрыс таңдап алу белгілі бір дәрежеде өнімнің дәміне, иісіне, сонымен қоса

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

қоюлығына әсер етеді. *Lactobacillus acidophilus* қосылған өнімге міндетті түрде органолептикалық бағалау жүргізу қажет. *Lactobacillus acidophilus* сапалық көрсеткіштері бірінші кестеде келтірілді.

Кесте 1. *Lactobacillus acidophilus* сапалық көрсеткіштері

Сапалық көрсеткіштің атауы	Сипаттамасы және қалыпты көрсеткіші
Консистенциясы мен сырқы түрі	Біртекті, тегіс
Дәмі және иісі	Таза сүтқышқылды, бөгде дәмі немесе иісі жоқ
Түсі	Ақ түсті азғадаған сарғыштау түсті, бүкіл массасы бойынша біртекті
Титрлік қышқылдылығы, °Т	65-75
Белсенді қышқылдылығы, рН	4,70-4,80
<i>Lactobacillus acidophilus</i> тірі клеткаларының саны. КОЕ/г кем емес	10 <sup>9</sup>
50 г-дағы ішек таяқшалары тобына кіретін бактериялар	кездеспеді
Ашытқылар 1г-да	Кездеспеді
Мезофильді анаэробты бактериялар спорасы 1г-да	кездеспеді
Патогенді микроорганизмдер, соным ішінде сальмонеллалар, 100 г-да	кездеспеді

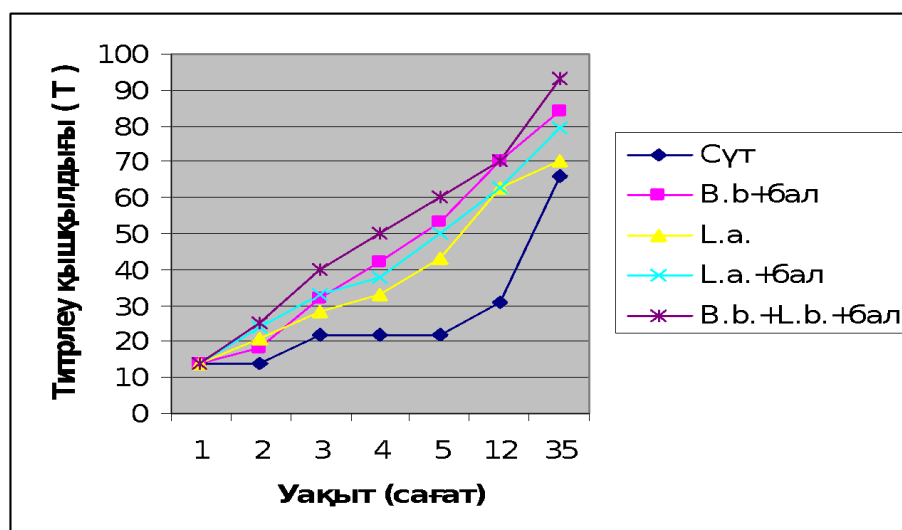
Екінші кестеде, сиыр сүтінің әртүрлі ашытқының көмегімен (бифидо- және лактобактерия), қышқыл тұзу қасиеті көрсетілген. 37<sup>0</sup>С термостатта әр сағат сайын қышқылдылығы анықталды. Қоректік ортасы әртүрлі бес үлгіні алдық. 1-ші үлгіде таза сиыр сүті, 2-ші үлгіде сүтке бифидобактерия және өсу стимуляторы ретінде балл қосылды. Ал, 3-ші үлгіге сүтке лактобактерия, 4-ші үлгіге сүтке лактобактерия және балды қосылды. 5-ші үлгідегі сүтке *Lactobacillus acidophilus* пен *Bifidobacterium bifidum*, өсу стимуляторы ретінде бал қосылды. Өсу стимуляторының мөлшері 1%.

Кесте 2. Сиыр сүтінің әртүрлі уақыт аралығындағы ферментация процесін зерттеу

Бактерия мен қоректік ортасы *	1 сағат	2 сағат	3 сағат	4 сағат	5 сағат	12 сағат	35сағат
Сиыр сүті	14	14	22	22	22	31	66
<i>V.b</i> +бал	14	18	32	42	53	70	84
<i>L.a</i>	14	21	28	33	43	63	70
<i>L.a</i> +бал	14	24	33	38	50	63	79
<i>V.b</i> + <i>L.a</i> + бал	14	25	40	50	60	70	93

\*Қоректік орта дегеніміз - бифидо-және лактобактериялардың өсуін қамтамасыз ететін фактор, яғни пребиотиктер.

*Lactobacillus acidophilus* мен *Bifidobacterium bifidum* консорциумы (1:1) және өсу факторы 1%. Себебі, бифидобактерия мен лактобактерия бір-бірінің өсуіне оң әсер етеді. Олардың өсуіне пребиотиктің (инулин) оң әсері айқындалды. Бесінші үлгіде басқа үлгілермен салыстырғанда жақсы нәтиже алынды.



Сурет 1. Сиыр сүті және *Lactobacillus acidophilus* (L.b.); *Bifidobacterium bifidum*(B.b.) және бал қосылған қышқылдығын анықтау

Пребиотиктерге тағамның ыдырамайтын құрамын жатқызамыз, олар бір немесе бірнеше топ бактериялардың көбеюіне және метаболиттік активтілігін ынталандырады. Тағам қоспасы пребиотик ретінде классифицирлену үшін, адамның асқазанындағы ферменттерінің гидролизіне ұшырамау керек, асқазан жолдарының жоғарғы бөлімдерінде абсорбиленбеу керек, бірақ тоқ ішектегі белгілі топ микроорганизмдердің өсуіне және метаболиттік активтілігіне селективті субстрат болу керек. Микроорганизмдер қатынасының реттелуі маңызды роль атқарады.

Бұл талаптарға сай тағамның қоспалары төменгі молекулалы көмірсулар болып табылады. Пребиотик қасиеттері анық болып фруктоолигосахаридте, инулинде, галакто-олигосахаридте, лактулозада көрсетіледі.

#### Әдебиеттер

- 1 Шидловская В.А. Ферменты молока. М.: Агропромиздат, 1984.
- 2 Урбисинов Ж.К. Пищевая и биологическая ценность традиционных местных молочных и мясных продуктов. Кандидатская диссертация. Алматы, 1992.
- 3 Заевский И.С., Крамаренко В.В. Индикаторы для определения качества молока.- Молочная промышленность, 1980, №1, с.355-37.
- 4 Попов С.М., Слепенков С.В., Кокряков В.Н. Сравнительное исследование пероксидазы нейтрофилов и молока коровы. В кн.: Современные достижения физиологии и биохимии лактации. Л., 1981, с. 205-211.
- 5 Тереньтева С.М. Верблюдоводство. Москва "КОЛОС", 1975
- 6 Воробьев А.А., Абрамова Н.А., Бондаренко В.М., Шендеров Б.А. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины // Вестник Российской АМН. 1997. №3. С. 4-7.
- 7 Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микробиологические нарушения у детей: Диетическая коррекция. АМН СССР. - М.: Медицина, 1991.
- 8 Куваева И.Б. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора. - М.: Медицина, 1976.
- 9 Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т.2: Социально-экологические и клинические последствия дисбаланс микробной экологии человека и животных.- М.: Изд-во «Грантъ», 1998.-416с.
- 10 Yaeshima T. Benefits of bifidobacteria to human health. Bull. Int. Dairy Fed. 1996,313 :36-42.

11 Petuely F. Bifidusflora bei Floschenkindern durch bifidogene Substanzen (Bifidusfaktor).  
r.Kinderheimkd. 1957,79: 174-179.

УДК 616-006-036.22:57(571.56)

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПРИАРАЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Ф.К. Рахимбекова<sup>1</sup>, Б.Б. Анапияев<sup>1</sup>, Д.Р. Кайдарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сатпаев Университет, Казахстан, г. Алматы

<sup>2</sup>Казахский Научно-исследовательский Институт Онкологии и Радиологии, Казахстан, г. Алматы

[farida.rakhimbekova@yandex.kz](mailto:farida.rakhimbekova@yandex.kz)

**Аннотация.** Состав генотипа и окружающая среда играют решающую роль в развитии таких заболеваний как рак. Человек, будучи частью экосистемы, зависит от чистоты водных, почвенных и воздушных экосистем. Тяжелые металлы и соли, которые были обнаружены в Аральском море после осушения, скорее всего являются причиной развития ряда заболеваний, в том числе онкологических.

**Ключевые слова:** экология, онкологические заболевания, тяжелые металлы

Экология на многих уровнях влияет на здоровье человека [1]. Человек является часть экосистемы и зависит от чистого воздуха, воды и почвы. Недавние изменения в экологии повысили экспозицию человека токсинами, в том числе тяжелыми металлами и солями. Существует максимальный объем потребления ресурсов, который истощается в современном антропологическом мире. Цели развития тысячелетия – борьба с бедностью и голодом; улучшение охраны здоровья; возобновление экологической устойчивости – не могут быть достигнуты без полного нормального функционирования экосистем. Следует отметить, что не только экология влияет на человека, но и человек своей нерациональным природопользованием и антропогенной деятельностью влияет на ослабление экологии (Рис 1).

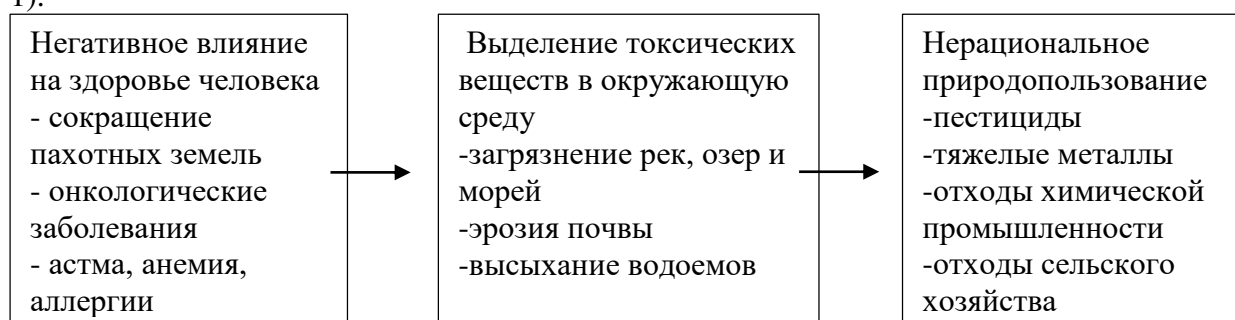


Рисунок 1. Схема влияние человека на окружающую среду и собственное здоровье

В Кызылординской Области находится Аральское Море, которое за последние несколько десятков лет пересохло и уменьшилось в объемах на более 80%. Данные показывают, что в 2010 году по сравнению с 1960 площадь озера уменьшилась чуть менее в пять раз, а объем воды – в 14 раз [2]. Реки Сырдарья и Амударья, которые питали Арал, были использованы для орошения посевных плантаций и скотоводства, сточные воды сбрасывались в реки. Воду брали выше по течению, что приводило к постепенному снижению уровня моря и пересыханию. В процессе пересыхания образовались солончаки и пустыня с большим количеством морской соли.

В процессе земледелия были использованы пестициды, соли тяжелых металлов, минеральные удобрения [3-4]. В условиях сухой солончаковой почвы они разносятся на

большие расстояния и попадают в дыхательные пути, на кожу, в желудочно-кишечный тракт людей и животных. Это приводит к соответствующим заболеваниям и с большей долей вероятности к малигнизации.

Тяжелые металлы, такие как кадмий и мышьяк, которые были выделены в процессе агрессивного земледелия, скорее всего являются причинами снижения здоровья населения, проживающего в Приаральской области [5]. Кадмий и мышьяк обладают большей связывающей способностью с лигандами цитохромов, в особенности гемоглобина и факторов печени [6]. Общий токсический эффект усиливается наличием высоких концентраций солей, которые имеют свойство осажать тяжелые металлы. Окружающая среда, также как и состав гено типа человека, играют решающую роль в развитии рака [1-6]. Существует необходимость работы экологов в качестве организации превентивных мер по устранению источников химического загрязнения тяжелыми металлами и солями.

### *Литература*

- 1 Myers S., Gaffikin L., Golden C. Human health impacts of ecosystem alteration/ Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013 – P. 18753-18760.
- 2 Аральское море. Карты, фотографии, видео. Причины гибели Арала и экологические последствия. 2013. – URL: <https://www.orexca.com/rus/uzbekistan/aralsea.htm>
- 3 Экология. Радионуклиды. 2018. – URL: <https://ru-ecology.info/term/25884/>
- 4 Захидов С. Арал возвращается обновленным//Независимая. - 2020. – URL: [https://www.ng.ru/science/2020-05-26/11\\_7870\\_aral.html](https://www.ng.ru/science/2020-05-26/11_7870_aral.html)
- 5 Kim, H. S., Kim, Y. J., & Seo, Y. R. 2015. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention/ Journal of cancer prevention, 2015. - 20(4). -P. 232–240.
- 6 Plewka A, Plewka D, Nowaczyk G, Brzóška MM, Kamiński M, Moniuszko-Jakoniuk J. Effects of chronic exposure to cadmium on renal cytochrome P450-dependent monooxygenase system in rats/ Archives of Toxicology, 2004. - 78(4). – P. 194-200.

ЭОЖ 602.3; 579.8

### **КҮРІШ АЛҚАБЫНАН БӨЛІНГЕН ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ НИТРОГЕНЕЗАЛЫҚ АКТИВТІЛІГІН ЖӘНЕ ӨСУДІ ЫНТАЛАНДЫРУШЫ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ**

А.К. Садвакасова, Б.Д. Қосалбаев, К. Болатхан, Б. Өндіріс, Ж.Ө. Мұстапаева,  
А.Б. Какимова, Б.Қ. Заядан

*әл-Фараби атындағы қазақ Ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан  
e-mail: [kossalbayev.bekzhan@gmail.com](mailto:kossalbayev.bekzhan@gmail.com)*

**Аннотация.** Цианобактериялардың алуантүрлігі мен физиологиялық ерекшеліктері тұрғысындағы осы уақытқа дейінгі зерттелген жұмыстар олардың биотехнология саласында маңызды нысан екендігін дәлелдейді. Соңғы жылдардағы цианобактериялар биоактивті қосылыстардың бай көзі ретінде назарға ие болды және олар биологиялық көптеген метаболиттерді өндіре алатын негізгі продуценттер ретінде танылды. Зерттеу жұмысында бөлініп алынған штамдардың азотфиксациялау қабілеті зерттеу нәтижесінде *Anabaena* sp. В1-4 штамының белсенділігі анықталып, *Anabaena* sp. В1-4 штаммында басқа бөлініп алынған түрлермен салыстырғанда  $C_2H_4$  газының тотығуының жоғары көрсеткішін тіркелді, ең жоғары этилен көрсеткіші  $3,5 \pm 0,2$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ құрады. *Anabaena* sp. В1-4 штамының  $24 \times 10^6$  кл/мл және  $48 \times 10^6$  кл/мл концентрациядағы клетка биомассасы азотсыз ортадағы

бақылаумен салыстырғанда күріштің өсуіне оң әсерін беретіні тіркелді. Осы штамм агробиотехнологиядағы маңызы объекті ретінде таңдалынып алынды.

**Кілт сөздер:** цианобактерия, идентификация, нитрогеназа, гетероциста, ацетилен

### Кіріспе

Цианобактериялардың әртүрлілігі мен физиологиясы тұрғысындағы осы уақытқа дейінгі зерттелген жұмыстар олардың биотехнологияда кең қолданылуына мүмкіндік береді. Соңғы жылдардағы зерттеу жұмыстарында цианобактериялар биоактивті қосылыстардың бай көзі ретінде назарға ие болды және олар биологиялық көптеген метаболиттерді өндіре алатын негізгі продуценттер ретінде танылды [1]. Бұл цианобактериялық метаболиттерге антибактериалды [2], антифугалды, антивирустық, антиканцер, антиплазмодиалды, алгицидті және иммуносупрессивті агенттер жатады. Антибиотиктер өндіруге қабілетті цианобактериялардың сұрыптау жұмыстарын жүргізу жаңа препараттардың жасалуына жол ашты. Кейбір цианобактериялар қасиеттері бойынша полиэтилен мен полипропиленмен салыстырылатын клеткаішілік полигидроксилканаттарды жинақтайды [3]. Нитрогеназа – азот фиксациясына жауап беретін, көп салалы, мультисубстратты күрделі фермент және негізінен N-нің барлық биохимиялық түзілуін катализдейтін прокариоттардың клеткаларында кездеседі, сонымен қатар, N глобальді биогеохимиялық азот циклін жүргізуді қамтамасыз етеді. Нитрогеназа көптеген субстраттарды (протондарды қосқанда) қалпына келтіру үшін магний аденозин үшфосфатын (MgATP) және электрондарды қолданады.

Зерттеу жұмысында әр түрлі эко-жүйелерден бөлініп алынған 5 түрлі азотфиксациялаушы цианобактерия штамдарының өнімділігін бағалау, нитрогеназа активтілігін зерттеу және күріштің өнімділігіне әсерін анықтау жұмыстары келтірілген.

### Зерттеу әдістері мен материалдары

Зерттеу материалдары ретінде Қызылорда облысы, Жаңақорған ауданының күріш алқаптарының келесідей цианобактериялары қолданылды: *Anabaena* sp. B1-4, *Cylindrospermum* sp. J-8, *Anabaena variabilis* K-31, *Oscillatoria* Sh-11, *Tolypothrix tenuis* J-1. Қоректік ортаға егілген үлгілердің жарықтандырылуы люминесцентті лампалар арқылы 50-200 мкмоль фотон/м<sup>2</sup>/сек қарқындылықта жүргізілді [4]. Цианобактериялардың жинақы дақылдарын алу үшін BG-11, Громов, Прата және Z1 қоректік орталары қолданылды. Осы қоректік орталармен қатар, BG<sub>0</sub>-11 және Заррука модификацияланған қоректік орталары да пайдаланылды [5]. Зерттеу жұмыстарында жарықтың қарқындылығы Quantum Q 40555 LI- 250A (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, USA) жарық өлшегіші арқылы ыдыстың 5 жерінен өлшелінді және ортақ көрсеткіші алынып, мкмоль фотон/м<sup>2</sup>/сек өлшем бірлігінде көрсетілді. Цианобактериялық дақылдар стерильді газбен аэрацияланды және 1% CO<sub>2</sub> газ RMA-0,063 G (Ресей) ротамерімен есептелініп, ауаның құрамына қосылды [6]. Дақылдау BOYU S-4000B (Қытай) ауа компрессорының көмегімен берілді. Нитрогеназаның белсенділігі Давид және т.б. (1980) жұмысына сәйкес 10% ацетилен/90% аргон газдық қоспаны виалдың ішіне 30 мин бойына енгізу тәсілімен анықталды [7]. 30 мл виалдағы клеткалар 250 мкмоль фотон м<sup>2</sup>/сек жарық қарқындылығында 24 сағат бойына дақылданды. Инкубациядан кейін 500 мкл газ үлгілері алынып, газдық қоспаның құрамындағы этиленнің концентрациясы анықталды. Ацетиленнің тотықсыздану белсенділігі GC-15A (Shumadzu, АҚШ) газды хроматографында анықталды, нмоль этилен/мг ҚБ/сағ көрсеткішінде ұсынылды.

### Зерттеу нәтижелері

Бөлініп алынған цианобактериялардың штамдарының нитрогеназа белсенділігін зерттеу.

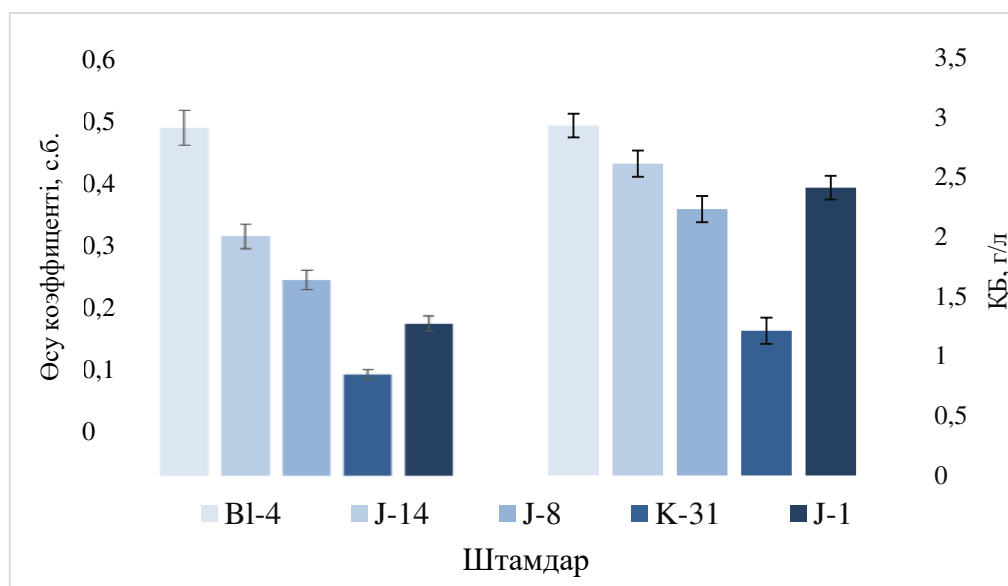
Азотсыз ортадағы дақылдардың өнімділігін анықтау үшін BG<sub>0</sub>-11 (азот көзін қоспай) қоректік ортасы қолданылды және өсу жылдамдығының коэффициенті мен құрғақ биомасса шығымы анықталынды. Нәтижелер 1-суретте келтірілген.

Зерттелген штамдардың барлығы азотсыз ортада өсу қабілетіне ие болғандығын атап



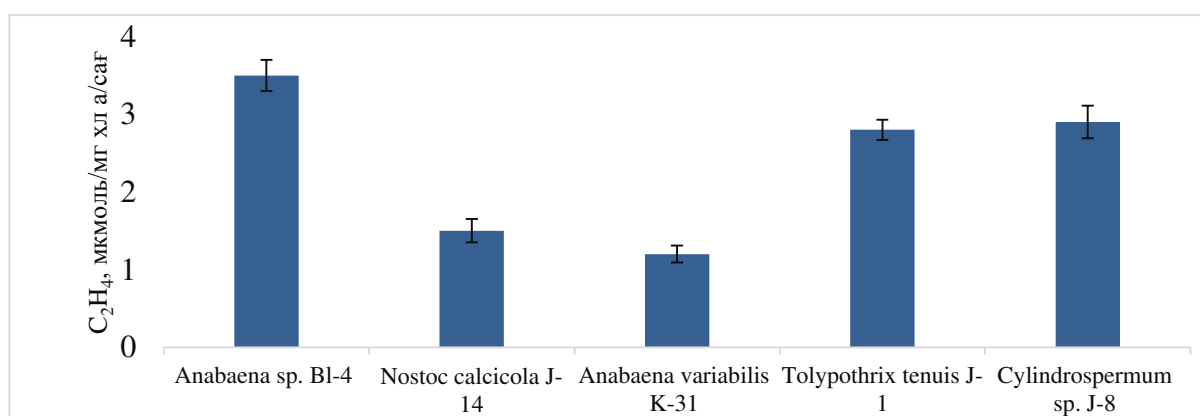
өткен жөн. Өсіру кезінде зерттелген штамдардың өсу коэффициенті әртүрлі мәндерге ие болды және ең белсенді өсу *Anabaena* өкілдерінде байқалды. Эксперименттің соңында *Anabaena* sp. B1-4, *Tolypothrix tenuis* J-1 және *Nostoc* sp. J-14 штамдарының құрғақ биомассаның шығымы, сәйкесінше,  $2,93 \pm 0,1$  г/л,  $2,61 \pm 0,1$  г/л және  $2,41 \pm 0,11$  г/л болды (Сурет 1).

Газ хроматограф нәтижелері гетероцисталы цианобактериялардың барлық штамдары ацетилендік ортада нитрогеназа белсенділігін көрсететіндігін тіркеді.



Сурет 1. Азотсыз ортада цианобактериялардың бөлініп алынған дақылдарының өнімділігін анықтау нәтижелері

Алынған нәтижелер бойынша, күтілгендей, зерттелген түрлердің арасында K-31 дақылы (*Anabaena*) салыстырмалы түрде төмен этилен мөлшері ( $1,2 \pm 0,11$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ) жиналды, ал *Anabaena* sp. B1-4 штамында этиленнің жоғары мөлшері болды ( $3,5 \pm 0,2$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ). Сонымен қатар, *Nostoc* sp. J-14 штамдары ( $1,5 \pm 0,5$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ) және *Tolypothrix tenuis* J-1 ( $2,8 \pm 0,13$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ) штамдары салыстырмалы түрде жақсы нәтиже көрсетті. J-8 дақылы үшін бұл көрсеткіш  $2,9 \pm 0,21$  мкмоль этилен/мг хл а/сағ құрады (Сурет 2).



Сурет 2. Бөлініп алынған цианобактерия дақылдарының нитрогеназа белсенділігін зерттеу нәтижелері

Осылайша, *Anabaena* sp. B1-4, *Nostoc* sp. J-14 және *Tolypothrix* J-1 штамдарымен жоғары

азот фиксациялау қабілеттілі тіркелінді. Жүргізілген тәжірибелер негізінде цианобактериялардың барлық бөлініп алынған штамдарының әр түрлі деңгейде азотты фиксациялау қабілеті бар екендігі анықталды.

*Бөлініп алынған цианобактерия штамдарының биомассасының күрішке әсерін зерттеу.*

Келесі кезекте *Anabaena* sp. В1-4 штаммының биомассасының күріштің өсуіне әсерін зерттеу жұмыстары жүргізілді. Азотфиксациялау белсенділігін арттыру үшін 1 мкмоль Мо қосылған, модификацияланған Аллен қоректік ортасы қолданылынды.

Келесі кезекте гетероцисталы цианобактерия штаммының биомассасының әсерін күріштің өсу көрсеткіштеріне тигізетін әсері зерттелді. Зерттелген штамдар арасында нитрогеназа белсенділігі бойынша ерекшеленген *Anabaena* sp. В1-4 штаммының әр түрлі концентрациядағы суспензиясының *Ақмаржан* сортының өсу көрсеткіштеріне әсері зерттелінді. *Anabaena* sp. В1-4 суспензиясының әр түрлі концентрациясының *Ақмаржан* сортына әсерін зерттеуде 1 мл-дегі клетка саны есептелінді.

Кесте 1. Азотфиксациялаушы *Anabaena* sp. В1-4 штаммының әртүрлі суспензиясының күріштің бойының өсуіне әсері

№	Тәжірибенің нұсқалары	Күріш бойының ұзындығы, см
1	Бақылау 1 – азотты Мурасиге-Скуга қоректік ортасы	35±1,4
2	Бақылау 2 – азотсыз Мурасиге-Скуга қоректік ортасы	20±1,3
3	1-нұсқа – 6x10 <sup>6</sup> кл/мл	24±1,3
4	2-нұсқа – 12x10 <sup>6</sup> кл/мл	28±1,2
5	3-нұсқа – 24x10 <sup>6</sup> кл/мл	34±1,9
6	4-нұсқа – 48x10 <sup>6</sup> кл/мл	32±1,1
7	5-нұсқа – 96x10 <sup>6</sup> кл/мл	29±1,1
8	6-нұсқа – 192x10 <sup>6</sup> кл/мл	25±1,9

1-кестеде көрсетілгендей, күріштің өсу көрсеткіштері әртүрлі болды. Бұл зерттеу жұмысында өсіп шыққан күріштердің бойының ұзындығы есепке алынды. Себебі, топырақтағы азоттың қалыпты концентрациясы өсімдіктердің өсуінде маңызды қызмет атқарады және тамырдың өсуіне оң әсерін тигізеді. Зерттеу жұмысында бақылау 1 нұсқасында өсіп шыққан күріштердің орташа ұзындығы 35±1,4 см құрады, ал азотсыз ортадағы бақылау 2 нұсқасында бұл көрсеткіш 20±1,3 см құрады, яғни, бақылау 1-мен салыстырғанда 15 см-ге төмен көрсеткіш тіркелді. 6x10<sup>6</sup> кл/мл концентрациядағы күріштердің максималды өсу көрсеткіші 24±1,3 болса, 12x10<sup>6</sup> кл/мл нұсқасы 4 см-ге жоғары болды (28±1,2 см). Тәжірибе барысында ең оптималды клетка концентрациясы 24x10<sup>6</sup> кл/мл (34±1,9 см) және 48x10<sup>6</sup> кл/мл (32±1,1 см) нұсқаларында болды. Клеткалардың суспензияларының шамадан тыс болуы өсімдіктің өсуіне теріс әсер етіп, келесі екі нұсқада

*Anabaena* sp. В1-4 цианобактерия штаммы *Ақмаржан* сортының өсуіне әсер ететіні байқалды. Күріш алқабынан бөлініп алынған штамм нитрогеназа ферменттерінің белсенділігімен ауадағы азотты фиксациялау процесін жүргізіп, топырақтың құрамын молекулалық азотпен байытады. Тәжірибедегі гетероцисталы цианобактерия дақылы биомассасының әртүрлі концентрациясы күріштің бойының өсуіне әсерін әрқалай тигізетіні тіркелді. Қорытындылай келе, 24x10<sup>6</sup> кл/мл және 48x10<sup>6</sup> кл/мл концентрациядағы клетка биомассасы күріштің өсуіне оң әсерін тигізетіні анықталды және осы штамм агробиотехнологиядағы болашағы мол объекті ретінде ауылшаруашылық-егістік жұмыстарына ұсынылады.

#### Қорытынды

Зерттеу нәтижелері әр түрлі экожүйелерден бөлініп алынған цианобактериялардың штамдары арқылы алынды. Зерттеу нәтижелері бойынша *Anabaena* sp. В1-4 штаммы активті биомасса өндіретін түр ретінде таңдаланып алынып, нитрогеназа белсенділігі бойынша да басқа бөлініп алынған түрлермен салыстырғанда жоғары болды. Іріктеліп алынған *Anabaena* sp. В1-4 штаммының  $24 \times 10^6$  кл/мл ( $34 \pm 1,9$  см) және  $48 \times 10^6$  кл/мл ( $32 \pm 1,1$  см) концентрациядағы клетка биомассасы азотсыз ортадағы бақылаумен ( $20 \pm 1,3$  см) салыстырғанда күріштің өсуіне оң әсерін беретіні тіркелді. Осы жағдайға байланысты нитрогеназа белсенділігі жоғары цианобактериялардың активті штамдарын бөліп алу және биотыңайтқыштар алуға пайдалануға бағытталған зерттеулер биотехнология саласының өзекті мәселерінің бір болып табылады.

### Әдебиеттер

- 1 Abed R.M.M., Dobretsov S., Sudesh K. Applications of cyanobacteria in biotechnology // Journal of Applied Microbiology. - 2009. – V. 106. - P. 1-12.
- 2 Jaki B., Heilmann J., Sticher O. New antibacterial metabolites from the cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b) // J Nat Prod. - 2000. - V. 63. - P. 1283-1285.
- 3 Steinbuchel A., Fuchtenbusch B., Gorenflo V., Hein S., Jossek R., Langenbach S., Rehm V.H.A. Biosynthesis of polyesters in bacteria and recombinant organisms // Polymer Degrad Stabil. -1997. - Vol. 59. - P. 177-182.
- 4 Кузяхметов Г.Г., Дубовик И.Е. Методы изучения почвенных водорослей: учебное пособие. Уфа: Изд -е Башкирск. ун-та, 2001. - 60 с.
- 5 Усербаева А., Сарсекеева Ф. Выделение штаммов цианобактерий из экстремальных источников Казахстана // Материалы международной конференции студентов и молодых ученых «МИР НАУКИ». Алматы: КазНУ им аль-Фараби. -2014. - С. 227.
- 6 Владимиров М.Г., Семенов В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. – М.: АН СССР, 1962. - 60 с.
- 7 David K.V., Apte S. K., Banerji A., Thomas, J. Acetylene reduction assay for nitrogenase activity: gas chromatographic determination of ethylene per sample in less than one minute // Applied and Environmental Microbiology. - 1980. - V. 39. - P. 1078-1080.

УДК: 574.224.46

## ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ УВЕЛИЧИВАЕТ SOS-ОТВЕТ В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ ФУРАЦИЛИНА

С.В. Смирнова, Т.Н. Шапиро, С.К. Абилев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики

им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва, Россия

e-mail: [s.v.smirnova.genet@gmail.com](mailto:s.v.smirnova.genet@gmail.com)

**Аннотация.** В работе проведено исследование влияния предварительного дейтерирования клеток lux-биосенсоров *Escherichia coli* K12 MG1655 (pColD–lux), (pRecA–lux) и (pDinI–lux) на индуцирующую SOS-ответ ДНК-повреждающую активность фурацилина. Показано, что оксид дейтерия (D<sub>2</sub>O) в концентрациях 5-10% усиливает генотоксичность фурацилина в 1,4-4,0 раза в клетках *E. coli*.

**Ключевые слова:** оксид дейтерия, фурацилин, *E. coli*, lux-биосенсоры, SOS-ответ

Оксид дейтерия (D<sub>2</sub>O), соединение тяжелого изотопа водорода (<sup>2</sup>H), влияет на живые организмы за счет изотопных эффектов, которые обусловлены существенным различием ядерных масс пары H/D. Дейтерирование оказывает антимиотическое действие на клетки, а

также повышает их чувствительность к цитотоксическому действию химических веществ и воздействию радиоактивного излучения.

Целью данной работы является изучение модифицирующего действия оксида дейтерия на индуцирующую SOS-ответ ДНК-повреждающую активность фурацилина в клетках *E. coli*. Для этого использовались три биосенсора на основе штамма *E. coli* K12: MG1655 (pColD-lux), MG1655 (pRecA-lux) и MG1655 (pDinI-lux), несущие рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*, транскрипционно слитым с промоторами генов *cda(colD)*, *recA* и *dinI* – PColD, PRecA и PDinI, соответственно [1]. Биосенсоры люминесцируют в результате активации указанных промоторов, входящих в SOS-регулон, в ответ на повреждение ДНК. Подробности методики исследования генотоксичности химических соединений lux-биосенсоров описаны в работах [2,3].

В качестве индуктора SOS-ответа использовался широко применяемый в медицинской практике бактерицидный препарат фурацилин, метаболиты которого приводят к образованию ДНК-аддуктов. В контрольные образцы вместо индуктора добавлялась стерильная дистиллированная вода. Тестирование генотоксиканта проводилось на трех lux-биосенсорах в 8 повторностях в трех независимых экспериментах.

На рис. 1 представлены результаты изучения способности фурацилина индуцировать у клеток штаммов PColD, PRecA и PDinI люминесценцию при 60 и 90 мин экспозиции. Регистрировалась зависимость люминесценции биосенсоров в относительных единицах интенсивности свечения (отн. ед.) от концентраций фурацилина в моль/л.

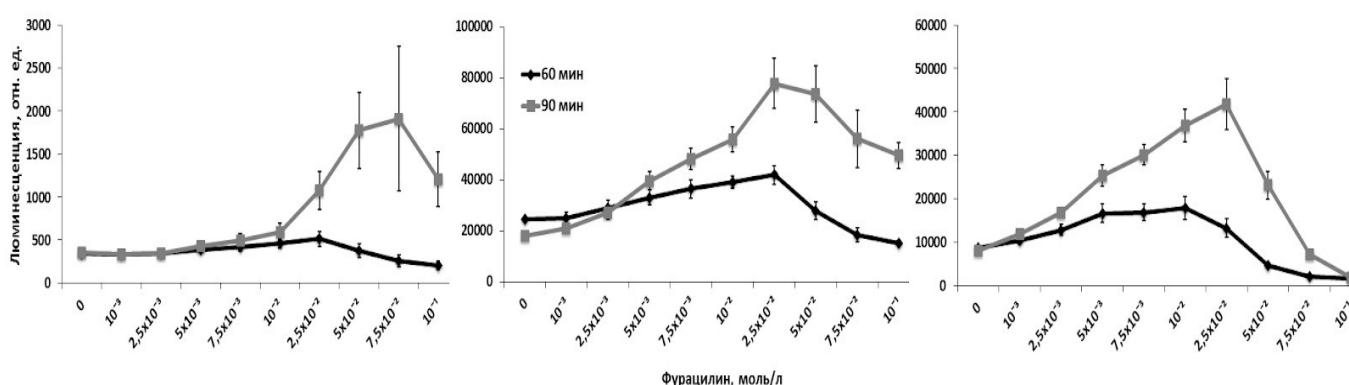


Рисунок 1. Показатели интенсивности люминесценции биосенсоров PColD, PRecA и PDinI при действии фурацилина; экспозиция 60 и 90 мин.

Таким образом, фурацилин у биосенсоров индуцировал люминесценцию в интервале концентраций  $10^{-3}$ – $10^{-1}$  моль/л, с максимальной индукцией свечения на биосенсоре PColD при концентрации  $7.5 \times 10^{-2}$  моль/л и при  $2.5 \times 10^{-2}$  моль/л на штаммах PRecA и PDinI.

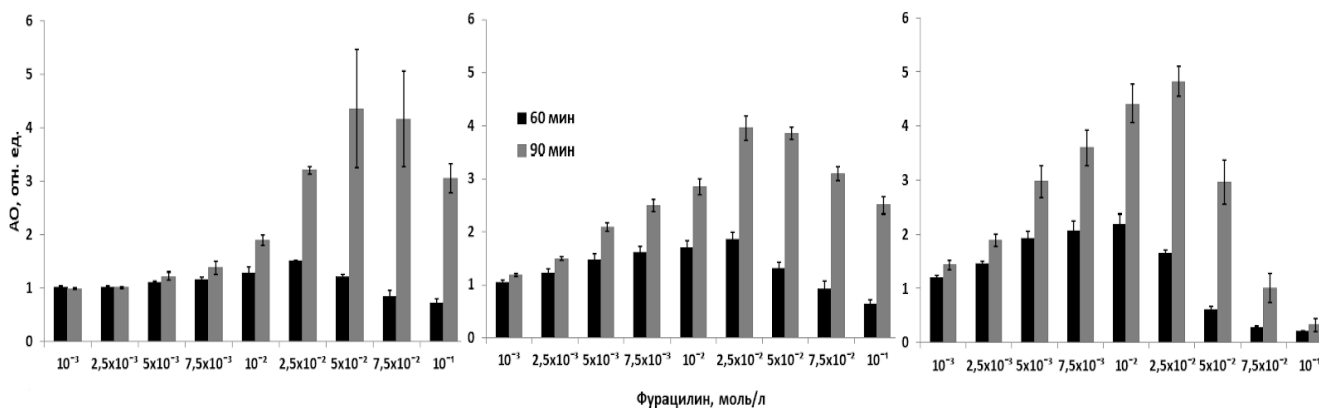


Рисунок 2. Показатели АО биосенсоров PColD, PRecA и PDinI при действии фурацилина в разных концентрациях и экспозиции 60 и 90 мин.

Для определения эффективности фурацилина как индуктора SOS-ответа *E.coli* по интенсивностям люминесценции рассчитывались амплитуды ответа (АО) биосенсоров при 60 и 90 мин экспозиции (рис. 2). АО показывает кратность превышения люминесценции в опытных образцах, являясь отношением показателя интенсивности люминесценции в присутствии индуктора к данному показателю в контроле на момент измерения. Фурацилин проявлял большую активность при 90 мин экспозиции с клетками биосенсоров. Максимальная эффективность препарата наблюдалась на штамме PDinI при  $AO > 4.0$ . На том же биосенсоре при 60 мин экспозиции с фурацилином зафиксировано наибольшее повышение интенсивности люминесценции с  $AO = 2.2$ .

Для изучения влияния  $D_2O$  на индукцию фурацилином SOS-ответа у биосенсоров использовали разные режимы предейтерирования бактерий. Результаты, полученные при предварительной инкубации клеток биосенсоров в среде с содержанием оксида дейтерия в концентрациях 5-10 % в течение 90 мин, выражены в единицах АО – отношения показателя интенсивности люминесценции дейтерированных клеток к этому показателю в недейтерированных.

Таблица 1. Показатели АО предварительно дейтерированных биосенсоров PColD, PRecA и PDinI при индукции SOS-ответа фурацилином в концентрации  $2.5 \times 10^{-3}$  моль/л.

Lux-биосенсор	Концентрация $D_2O$			
	5%	7.5%	9%	10%
PColD	<b>2.0*</b> $8.2 \times 10^{-4}$	<b>4.0</b> $1.8 \times 10^{-9}$	<b>2.8</b> $3.1 \times 10^{-4}$	<b>2.7</b> $5.3 \times 10^{-7}$
PRecA	<b>2.2</b> $9.4 \times 10^{-13}$	<b>2.5</b> $3.8 \times 10^{-11}$	<b>1.4</b> $1.0 \times 10^{-6}$	<b>0.9</b> $2.7 \times 10^{-2}$
PDinI	<b>1.6</b> $1.5 \times 10^{-6}$	<b>1.6</b> $9.6 \times 10^{-6}$	<b>2.0</b> $2.8 \times 10^{-8}$	<b>1.9</b> $1.2 \times 10^{-7}$

\*полужирным выделены значения АО, ниже в ячейке приведены значения *p-value*

Наибольший потенцирующий эффект оксида дейтерия наблюдался при дейтерировании клеток биосенсора PColD, диапазон АО составил 2.0-4.0. Самой эффективной концентрацией  $D_2O$  в данном случае была 7.5% ( $AO = 4.0$ ;  $p = 1.8 \times 10^{-9}$ ).

На штамме PRecA максимальный модифицирующий эффект дейтерирования также показан для концентрации  $D_2O$  равной 7.5% ( $AO = 2.5$ ;  $p = 3.8 \times 10^{-11}$ ). Значения АО находились в диапазоне 0.9-2.5.

Люминесценция дейтерированных клеток биосенсора PDinI при индукции SOS-ответа фурацилином превысила в 2 раза контрольный уровень при содержании  $D_2O$  в концентрации 9.0% в инкубационной среде ( $AO = 2.0$ ;  $p = 2.8 \times 10^{-8}$ ), составив максимальное значение АО при общем диапазоне 1.6-2.0.

#### Заключение

Показано, что дейтерирование значимо усиливает SOS-ответ клеток *E. coli*, индуцированный фурацилином. Наиболее эффективными для усиления генотоксичности изучаемого препарата были концентрации  $D_2O$  7.5 и 9.0% в среде предварительной инкубации клеток биосенсоров. Максимальный эффект дейтерирования наблюдался при индукции фурацилином экспрессии гена *cda(colD)* по изменению интенсивности люминесценции

биосенсора *E. coli* K12 MG1655 (pColD–lux). Ранее на данном штамме продемонстрировано усиление SOS-ответа, индуцированного другим аддуктообразователем 4-нитрохинолин-1-оксидом, а также митомицином С, вносящим однонитевые и межнитевые сшивки в ДНК [2], налидиксовой кислоты, подавляющей репликацию ДНК путем ингибирования ДНК-гиразы [4], и других веществ с разными механизмами ДНК-повреждающего действия [4,5]. Что свидетельствует о широких возможностях потенциального применения D<sub>2</sub>O в качестве агента, усиливающего действие фармпрепаратов.

### *Литература*

- 1 Завильгельский Г.Б., Котова В.Ю., Манухов И.В. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов для детекции токсичных веществ // Химическая физика.-2012.-№ 10.-С.15–20
- 2 Abilev S.K., Smirnova S.V., Igonina E.V., Parmon, V. N., Yankovsky, N. K. Deuterium oxide enhances *Escherichia coli* SOS response induced by genotoxicants // Doklady Biological Sciences.-2018.-Vol. 480.-P. 1–5.
- 3 Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V., Yankovsky N.K., Glaser V.M., Parmon V.N. The effect of deuterium on induction of the ada-regulon with alkylating compounds in the cells of *Escherichia coli* // Russian Journal of Genetics.-2018.-№ 8.-P.919–924.
- 4 Смирнова С.В., Шапиро Т.Н., Игонина Е.В., Абилев С.К. Оксид дейтерия усиливает SOS-ответ *Escherichia coli*, индуцированный бактерицидными средствами // Медицинская генетика. -2020.-№ 9.-С.79-80.
- 5 Abilev S.K., Igonina E.V., Smirnova S.V., Rubanovich A.V. Effect of deuterium on the expression of inducible genes in *Escherichia coli* // Biology Bulletin.-2019.-№ 11.-P.1595-1600.

УДК 631.48

## **ТОПЫРАҚТЫҢ ТҰЗДАНУЫ ЖӘНЕ ОНЫҢ СОЯ ӨСІМДІГІНЕ ӘСЕРІ**

М.Р. Сыздық

*ал-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті,  
Қазақстан, Алматы қ-сы  
e-mail: aizadarahat@mail.ru*

**Аннотация.** Топырақ пен жер асты суларының пестицидтермен, нитраттармен және әртүрлі тұздардың ластануы, топырақтың жоғарғы қабатының тығыздалуы, тозуы және тағы басқа мәселелерінің пайда болуына әсер етеді. Сондықтан соңғы жылдары экологиялық қауіпсіз егіншілік жүйесін әзірлеу туралы мәселе өзекті болып отыр. Соның ішінде бүгінгі таңда топырақтың тұздануы өте өзекті мәселеге айналып отыр. Топырақтың тұздануы өсімдіктің өнімділігіне тікелей әсер етеді. Топырақтың тұздануы әлем елдерінде салыстырмалы түрде әртүрлі деңгейде таралған. Осы мақалада негізгі дақылдардың бірі саналатын сояға тұзданудың әсері қарастырылады.

**Кілт сөздер:** қоршаған орта, топырақ, тұздану, еритін тұздар, соя.

«Халықаралық Қоршаған орта және даму» және «Әлемдік Ресурстар Институтының» деректері бойынша континенттер бетінің шамамен 10% тұзды топырақпен жабылған. Тұздану мәселесі әлемнің 75 елінде (Австралия, Қытай, Үндістан, Ирак, Мексика, Пәкістан, АҚШ және т.б.) байқалады. 222 млн. га егістік жердің 40 млн. га сортаң топырақты алып жатыр. Суармалы жерлер үшін агрохимиялық мелиорация 211 мың га алқапта қажет, ал қатты тұздалған топырақ 101 мың га-дан асады. Ресейдің тұзды топырақтары 53 997 мың га немесе Ресейдің жалпы ауданының 3,3% және жазықтардың топырақ ауданының 5,0% құрайды. Тұзды топырақ Қазақстанның оңтүстік және орталық аудандарында кең таралған. Бұл құрғақ

жерлерде жылдық жауын-шашын мөлшері 100-150 мм, ал булану жауын-шашыннан асады. Ауданның топырағы орташа және қатты тұзды[1].

Топырақтың тұздануы-тұзды (терең тұздану), тұзды (беткі тұздану) және сода-тұзды топырақтардың пайда болуына әкелетін еритін тұздардың жинақталу процесі. Тұздану бастапқы және қайталама болуы мүмкін[2].

Тұзды топырақ - бұл әр түрлі генезисі мен қасиеттері бар топырақ тобы, олардың құрамында оңай еритін тұздар бар, олар топырақ құнарлылығын нашарлатады және көптеген өсімдіктердің өсуіне және дамуына теріс әсер етеді. Тұздану химизмі бойынша  $\text{pH} < 8,5$  (хлоридті, сульфатты – хлоридті, хлоридті-сульфатты, сульфатты) және сілтілі тұздану- $\text{pH} > 8,5$  (хлоридті – сода, сода-хлоридті, сульфатты-сода, сульфатты, сульфатты-хлоридті-гидрокарбонатты) бейтарап тұздануы бар топырақты ажыратады. Топырақтың тұздануын бағалау кезінде, әдетте, оңай еритін тұздардың аниондарын ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) және катиондарын ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) анықтайды. Кейбір жағдайларда нитрат және нитрит иондары қосымша анықталады. Оңай еритін тұздардың уытты әсері топырақ ылғалының осмотикалық қысымының жоғарылауымен, өсімдіктерге қол жетімділігінің төмендеуімен, минералды тамақтану элементтерінің қалыпты қатынасының бұзылуымен және топырақ қасиеттеріне теріс әсерімен көрінеді. Бұл жағдайда тұздар өсімдіктерге нақты уытты әсер етуі мүмкін. Тұзды топырақтарда оңай еритін тұздар топырақ ерітіндісінде және топырақтың қатты фазаларында болады.

Топырақтың тұздануына әкелуі мүмкін негізгі элементтер, қосылыстар – Ca, Mg, Na, K, Cl, S, C, n, B, Si. Топырақтың тұздануы негізінен тұздар түрінде жүреді: хлоридтер – NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>; сульфаттар – Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; карбонаттар – Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, MgCO<sub>3</sub>, CaCO<sub>3</sub>, Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; нитраттар – NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>; бораттар –  $\text{Na}_2\text{B}_2\text{O}_7$  және т.б. Топырақта оңай еритін тұздар болуы мүмкін улы және улы емес. Уытты тұздар хлоридтерге (NaCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>), сульфаттарға (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>), карбонаттарға (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) және нитраттарға (NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>) бөлінеді. Өсімдіктерге әсер ету арқылы тұздар депрессиялық әсердің төмендеу дәрежесі бойынша қатарға орналастырылады: Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> → NaHCO<sub>3</sub> → NaCl → NaNO<sub>3</sub> → CaCl<sub>2</sub> → Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → MgCl<sub>2</sub> → MgSO<sub>4</sub>. Уытты емес тұздарға CaCO<sub>3</sub>, CaSO<sub>4</sub> жатады. Суда еритін негізгі минералдарға мыналар жатады: – сульфаттар: арканит, глазерит, эпсомит, гипс, жартылай гидрат, ангидрит, глауберит, гексагидрит, старкеит, мирабилит, тенардит, кизерит; – хлоридтер: галит, каинит, карналлит, сильвин, бишофит; – карбонаттар: доломит, кальцит, арагонит, люблинит, магнезит, буркеит, гейлусеит, нахколит, пирсонит, термонатрит, трон; - нитраттар: калий нитраты, натрий нитраты, кальций нитраты. Топырақтың оңай еритін тұздары тұздар кешенін құра алады: полигалит (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>•MgSO<sub>4</sub>•CaSO<sub>4</sub>•2H<sub>2</sub>O), сильвинит (KCl•NaCl), карналит (KMgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O), каинит (KCl•MgSO<sub>4</sub>•6H<sub>2</sub>O). Өсімдіктер үшін ең жоғары уыттылық натрий карбонаттарына ие, содан кейін хлоридтер мен сілтілік нитраттар; сульфаттар ең аз уытты болып келеді. Топырақтың құнарлылығы тұрғысынан ең маңызды көрсеткіш-жоғарғы метрлік (тамырланған) қабаттың тұздануы. Топырақ профилінің екінші метрінде және астындағы жыныстарда тұздардың болуы қайталама тұзданудың дамуына ықпал етеді. Морфологиялық тұрғыдан тұзды топырақты тереңдігі, химиясы және тұздану дәрежесі бойынша бөлу қиын, сондықтан тұзды топырақты оқшаулау, оларды диагностикалау және жіктеу химиялық талдау нәтижелеріне негізделген [3,4,5,6].

Қазақстанның тұзды топырағы. Қазақстан аумағы бойынша сортаңданған топырақ біркелкі бөлінбеген. Қазақстан Республикасы «Жер ресурстарын басқару агенттігінің» деректері бойынша, тұзданған топырақ, сортаң және сортаң жерлер (әсіресе қуаң дала және шөл-дала аймақтарында) жалпы алаңның 41% - дан астамын алып жатыр. Сонымен қатар, Қазақстанның далалы аймағының қара топырақтары, қызғылт топырақтары және басқа да топырақтары бар. Аумақтық - географиялық тұрғыдан сортаңданған топырақ біркелкі бөлінбейді. Кәдімгі және сілтіленген топырақтың ішінде олар ауданның 29-30%, Оңтүстік

топырақтардың 37% алады, ал ашық каштан топырақтарының құрғақ жағдайларында олар 51% жетеді, қоңыр шөлді топырақтарда-55% құрайды. Сұр-қоңыр және тақыр тәрізді топырақтар арасындағы ең құрғақ және шөлді жағдайларда тұзды топырақтар субзонның жалпы ауданының тек 46% - на жетеді. Тұзды топырақтарға сортаң жатады.

Қазақстандағы тұзды топырақ түрлері. Тұзды батпақтар-бұл тұздар тікелей бетінде жиналатын ең тұзды топырақ. Сортаң жерлер Қазақстанның 85 мың км<sup>2</sup> аумағын алып жатыр. Олар қоңыр және сұр-қоңыр топырақ аймақтарында шоғырланған. Қазақстанның жазық аумағының басым бөлігін шөлді аймақтарда таралған сортаңдар алып жатыр. Алайда, қоңыр және сұр-қоңыр топырақ аймақтарындағы тұзды батпақтардың үлесі бірнеше есе артып, сәйкесінше 7.9% және 5.0% жетеді. Дала аймақтарындағы барлық сортаңданған топырақ алаңынан сортаңдардың үлесі 1-ден 3%-ға дейін, шөлді аймақта-13.2-7.2% - ға дейін ауытқиды [7,8].

Соя әлемдегі негізгі дақылдардың бірі болып табылады, соңғы екі онжылдықта азық-түлікке деген сұраныстың артуымен қатар өндірісті екі есе арттырды, бұл әлемдегі егістік жерлердің қол жетімділігіне қысымды арттырды. Бұл соя қазір дәстүрлі егістік жерлерде ғана емес, сонымен қатар маргиналды топырақтарда да орналасуының басты себебі. Сояның таралуы әлемнің әртүрлі бөліктеріндегі тұзды топырақтарда құжатталған.

Соя 0,5 см/м шекті мәні бар тұздануға орташа төзімді ретінде жіктеледі, содан кейін өсу айтарлықтай төмендейді. Алайда, басқа авторлар төменгі шекті мәндерді ұсынды, шамамен 0,2 см/м. Алайда сояның тұздануға реакциясы фенологиялық кезеңдерде өзгереді. Бұл зерттеулерді шектеу – олар тұрақты тұзды деңгеймен жүргізілді. Еритін тұздар топырақта өте мобильді болғандықтан, уақыт өте келе топырақтың тұздануы өзгереді. Кейбір топырақтарда көбінесе тұздану концентрациясы төмен; бірақ олар топырақтың тұздануының кенеттен жоғарылауына ұшырап, жаңбырдан кейін төмен деңгейіне оралуы мүмкін. Бұл жағдай тұздылық шыңдары деп аталады және жаз мезгілінде ылғалды және құрғақ жерлерде жиі кездеседі. Тұзды шыңдардың болуының тағы бір контексті - бұл тұзды су көзінен суару немесе батпақтану салдарынан тұзданудың жоғарылауына бейім топырақ[9].

Натрий (Na) және хлорид (Cl) - тұзды топырақтағы негізгі иондар. Хлорид фитотоксикалық болып табылады, бірақ өсімдіктердің оған сезімталдығы түрлер мен генотиптердің айырмашылығына байланысты айтарлықтай өзгереді. Сояға фитотоксикалық әсер ететін топырақ хлоридінің минималды концентрациясы әлі белгісіз[10].

Қорытындылай келе, тұзды топырақ құрғақ ландшафттардың кең таралған құрамдас бөлігі болып табылады. Топырақтың тұздануы топырақтың тозу белгілерінің бірі болып табылады және олардың құнарлылығын айтарлықтай төмендетеді. Тұзданудың кері әсері соя өсімдігінің тұзды стресске төзімділігін артыру механизмдерін зерттеуге көмектеседі. Төзімді сорттарды анықтау стрессті жағдайда өсетін өсімдіктердің егіншілігін арттыруға ықпал етеді.

### Әдебиеттер

- 1 Chen M. L., Huang Y. Q., Liu J. Q., Yuan B. F., Feng Y. Q. (2011). Highly sensitive profiling assay of acidic plant hormones using a novel mass probe by capillary electrophoresis-time of flight-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 879 938–944. 10.1016/j.jchromb.2011.03.003
- 2 Deng B., Yang K., Zhang Y., Li Z. (2016). Can heavy metal pollution defend seed germination against heat stress? Effect of heavy metals (Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup>) on maize seed germination under high temperature. *Environ. Pollut.* 216 46–52. 10.1016/j.envpol.2016.05.050
- 3 Farhangi-Abri S., Torabian S. (2017) Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 137 64–70. 10.1016/j.ecoenv.2016.11.029
- 4 Finkelstein R., Reeves W., Ariizumi T., Steber C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59 387–415. 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092740



5 Brinkman, R. 1988. Saline and sodic soils. p. 62-68. In: International Institute for Land Reclamation and Improvement. Land Reclamation and Water Management, Wageningen, Netherlands.

6 Chauhan, C.P.S.; Singh, R.B.; Gupta, S.K. 2008. Supplemental irrigation of wheat with saline water. *Agricultural Water Management* 95: 253-258.

7 Асанбаев И.К., Фаизов К.Ш. 2007. Почвоведение с основами экологии и географии почв. Алматы: Казахский государственный университет. 218 с.

8 Беркалиев З.Т. 1959. Гидрологический режим рек Центрального, Северного и Западного Казахстана. Алма-Ата. 278 с.

9 Боровский В.М. 1982. Формирование засоленных почв и галогеохимические провинции Казахстана. Алматы: Наука КазССР. 253 с.

10 Бочкарева В.А., Сыдыков Ж.С., Джангириянц Д.А. 1973. Грунтовые воды Каспийской равнины и ее восточных побережий. Алма-Ата. 52 с.

ӘОЖ: 633.2; 664.7

## ҚАЗАҚСТАННЫҢ ОҢТҮСТІК-ШЫҒЫСЫНДА ӨСІРІЛГЕН ТРИТИКАЛЕ СОРТТАРЫНЫҢ ДӘН САПАСЫНА ТАЛДАУ ЖАСАУ

Қ.Ж. Тағаев<sup>1</sup>, К.К. Кожаметов<sup>2</sup>, А.А. Тореханов<sup>1</sup>, З.Б. Сапахова<sup>3</sup>, Ш.А. Медетова<sup>4</sup>

<sup>1</sup> «Ұлттық аграрлық ғылыми-білім беру орталығы» КеАҚ., Нұр-Сұлтан,

<sup>2</sup> «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Алмалыбақ, Алматы облысы

<sup>3</sup> «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ., Алматы,

<sup>4</sup> «әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» КеАҚ., Алматы  
[zagira.sapakhova@kaznu.kz](mailto:zagira.sapakhova@kaznu.kz)

**Аннотация.** Мақалада Қазақстанның оңтүстік-шығыс жағдайларында (Алматы, Жамбыл, Түркістан облысы) өсірілген тритикале сорттарының Таза, Орда және Балауса 8 сорттарының дән сапасы, ұн шығымы, дәннің химиялық құрамы мен шаруашылыққа құнды белгілері зерттелген. 1000 дәннің салмағы бойынша ең жоғары көрсеткіш Жамбыл облысы жағдайында (43,0-51,0 г.) байқалды. Зерттеу нәтижесінде ақуыздың мөлшері Таза сортында – 7,3-14,8%, Орда сортында – 10,7-13,0%, Балауса 8 сортында – 7,9-15,8% құрады. Крахмалдың көрсеткіші Таза сортында – 57,1-67,6%, Орда сортында – 60,9-67,3%, Балауса сортында – 58,7-66,8% болды. Таза сортының Түркістан облысы жағдайында дәнінің қаттылығы 55% болса, Алматының тәлім жағдайында 21% және Жамбыл жағдайында 29% құрады. Таза сортында ең жоғары дән мөлдірлігі (97%) Түркістан облысы жағдайында болса, ең төмен дән мөлдірлігі Алматы суармалы жағдайында (39%) байқалды. Натуралық салмағы өсіру жағдайына байланысты 627 г/л-ден 751 г/л-ге дейін ауытқыды.

### Кіріспе

Бидай (*Triticum*) мен карабидайды (*Secale*) будандастыру нәтижесінде ең алғашқы алынған өсімдігі дәнді дақыл тритикале деп аталды. Тритикале дәнінің селекциясына негіз салған Эдинбург ботанигі А.С. Уилсон (1975). Оның мақсаты осы екі дақылдың жақсы қасиеттері бір организмде болатын дән алу болды. Алынған өсімдіктің аталуына бастапқы екі өсімдіктің латын атауы — *Triticum* және *Secale* алынды. Оның бастамасын Германиядағы басқа да селекционерлер қолдады [1]. Тәжірибелер сәтті шықты, жаңа дақыл бүкіл континентке таралды – 1975 жылы тритикале сортының бүкіләлемдік сынауы Солтүстік және Латын Америкада, Еуропада, Оңтүстік-Шығыс және Орталық Азияда мен Африкада жүргізілді. Жаңа дақыл дүние жүзінде үлкен қызығушылық туғызды. Күздік бидайдан артықшылығы азотты тыңайтқыштардың аз мөлшерін ендіргенде ақуыз мөлшері

жоғарылайды [2]. Ол бидайға қарағанда 1,5-2 есе көп өнім береді, өсіру қиын емес, құнарлығы төмен топырақтарда өсуге қабілеті, ауруларға, қуаңшылық пен аязға төзімділігі оның ауылшаруашылығы үшін маңыздылығын арттыра түседі [3].

Тритикаленің дәнінің тағамдық құндылығы тамақ өндірісі үшін үлкен қызығушылыққа ие. Бидай дәнімен салыстырғанда тритикале дәні лизин, треонин және лейцин сияқты тұрақты амин қышқылдарына бай, өйткені алмаспайтын амин қышқылдары адам организмінде синтезделмейтін болғандықтан, олар сыртқы ортадан түсуі қажет [4]. Ал бидай ақуызында спирт пен қышқылда еритін фракциялар (глиадиндер мен глютаминдер) басым. Тритикаленің крахмалы қарабидай мен бидайдың крахмалына қарағанда амилозасы аз, сондықтан адам организмінде оңай сіңіріледі. Оған қоса тритикаленің шырышты қасиеті нан пісіру қасиетіне оң әсер етеді.

Бүгінгі таңда тритикале дәнінің қолдану аясы жануарларға қорек ретінде, одан жем-шөп және спирт дайындайды. Сонымен қатар нан пісіруде, кондитерлік өнімдер дайындауда, сыра ашытуда қолданылады. Құс шаруашылығы және малазықтық дақыл ретінде бидай, жүгері, арпа мен қонақтарыдан артықшылықтары бар [5]. Көптеген елдерде тритикале ақуыз бен крахмалдың қосымша көзі ретінде белгілі. Тритикаленің сорттарын ендіру ерте және кеш орылатын жоғары ақуызды жасыл жем-шөп, арзан жоғары ақуызды малазықтық және диеталық нан пісіру үшін шикізат мәселелерін шешуге көмектеседі [6].

Дегенмен тритикаленің қоректік қасиеттері жіті зерттелмеген. Оның тағам ретіндегі қолдану аясын кеңейту үшін оның шикізат ретіндегі технологиялық артықшылықтарын анықтайтын қасиеттерін зерттеу қажет. Тритикаленің өнімділік потенциалы бидаймен салыстырғанда жоғары, бірақ осы қасиетін реализациялау потенциалы төмен, өйткені тритикаленің масағында дамымаған масақшалар көп болады және жоғары масақтардың дән салуы бидаймен салыстырғанда төмен болып келеді [7]. Аталған белгі бойынша оның өнімділігін арттыру маңызды болып табылады. Тритикале дақылы өндірісте кең қолданысқа ие емес және қолдану үшін сорттардың әртүрлілігі мен санын арттыру мен селекциялық жақсартуды талап етеді.

Тритикале селекциясындағы ең қиын міндеттердің бірі дақылдың пластикалығын арттыру. Дақылды жақсарту бойынша селекция үшін бастапқы материалдан алатын, тритикаленің табиғи шығу орны жоқ, селекциядағы ең бірінші міндеттердің бірі тритикаленің генетикалық әртүрлілігі. Сондықтан қолда бар селекциялық тәсілдердің барлығын қолданып, олардың перспективті формаларын түрлі табиғи-климаттық аймақта және экологиялық сынаулардан өткізіп, қатаң селекциялық іріктеуді қажет етеді [8].

Қазақстанда Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының қызметкерлері тритикаленің жаңа сорттарын шығаруда [9]. Шығарылып жатқан сорттардың әртүрлі экологиялық нүктелерде өсірілген жағдайда дән сапасын анықтау мақсаты тұр. Әртүрлі географиялық аймаққа бейімделген, жоғары өнімді тритикале сорттарын іріктеуге болады. Сонымен қатар, Қазақстанның оңтүстігі мен оңтүстік-шығысы үшін ауа-райы және топырақ жағдайына бейімделген, жаз айларында байқалатын қуаңшылық жағдайларына төзімді тритикале сорттарын іріктеу өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

*Зерттеу жұмысының мақсаты:* Қазақстанның оңтүстік - шығыс жағдайында тритикале сорттарының шаруашылыққа құнды белгілері мен дән сапасын зерттеу.

#### **Зерттеу нысаны мен әдістері**

Зерттеу жұмысы Қазақстанның оңтүстік-шығысында, яғни Алматы облысы, Қарасай ауданына қарасты Алмалыбақ ауылында орналасқан Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының тәжірибелік жер мөлтектерінде, тәлім жерлерде Жамбыл облысы мен Түркістан облысының тәлімді жерлерінде жүргізілді. Зерттеу нысаны ретінде тритикале сортының Таза, Орда және Балауса 8 сорттары алынды. Бидай егістігіндегі фенологиялық және өнімділік көрсеткіштері Б.А. Доспехов әдісінің негізінде анықталды [10]. Дән сапасын анықтау МЕМСТ сәйкес жасалды [11].

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Қазақстанның оңтүстік-шығыс жағдайында тритикаленің Таза, Орда және Балауса 8 сорттарының дән натурасы, дәнінің қаттылығы, дән мөлдірлігі, ұн шығымы мен дәннің химиялық құрамы анықталды. Сонымен қатар өнімділік көрсеткіштерінің маңыздыларының бірі 1000 дәннің салмағы анықталды (Кесте 1). Тритикале өсімдігінің шаруашылық-құнды белгілерінің ішіндегі ең маңыздысы – 1000 дәннің салмағы есептелді. 1000 дәннің салмағы бойынша ең жоғары көрсеткіш Жамбыл облысы жағдайында (43,0-51,0 г.) байқалды. Әртүрлі экологиялық нүктелерде өсірілген тритикале сорттарының 1000 дәнінің салмағы 21,1-51,0 г. аралығында ауытқыды. Таза сорты үшін аталған көрсеткіш – 39,4-51,0 г., Орда сорты үшін – 33,7-43,0 г., ал Балауса 8 сорты үшін 21,1-45,0 г. болды. Сонымен, 1000 дәннің салмағы бойынша, зерттелген тритикаленің үш сортының дәндері айтарлықтай ірі деуге болады. Тритикаленің зерттелген үш сортының дәндерінің химиялық құрамы да мына көрсеткіштерді көрсетті. Зерттеу нәтижесінде ақуыздың мөлшері Таза сортында – 7,3-14,8%, Орда сортында – 10,7-13,0%, Балауса 8 сортында – 7,9-15,8% құрады. Крахмалдың көрсеткіші Таза сортында – 57,1-67,6%, Орда сортында – 60,9-67,3%, Балауса 8 сортында – 58,7-66,8% болды. Майдың мөлшері Таза сорты мен Балауса 8 сортындай бірдей болды деуге болады (1,7-2,3%), ал Балауса 8 сорты 1,9-2,4% ие болды. Дәннің қаттылығы дәннің технологиялық сыныбының индикаторы болып табылады. Таза сортының Түркістан облысы жағдайында дәнінің қаттылығы 55% болса, Алматының тәлім жағдайында 21% және Жамбыл жағдайында 29% құрады. Алматы суармалы жағдайында дән қаттылығы 15% болып, төмен көрсеткіш көрсетті. Орда сортында бұл көрсеткіш Жамбыл және Түркістан облысы жағдайларында өсірілген өсімдіктерде 31% және 39% болса, Алматы суармалы аймағы мен Алматының тәлім жағдайында 26% және 29% құрады. Сонымен тритикаленің үш сортының әртүрлі жағдайда өсірілген өсімдіктерінің дәндерінің қаттылығын анықтау барысында жұмсақ дәнді және орташа қатты дәнді деп жіктелді, яғни Таза сортының дәндері орташа қатты дәнді, ал Орда мен Балауса 8 сорттарының дәндері жұмсақ дәнді деп негізделді. Дән мөлдірлігі дәннің сапасын көрсететін маңызды көрсеткіштердің бірі.

Кесте 1. Тритикале сорттарының дәнінің химиялық құрамы, салмағы, дән мен ұн сапасы

Экологиялық сынау пункттері	Таза	Орда	Балауса
1000 дәнінің салмағы, г			
Алматы суармалы аймағы	42,1	40,2	38,8
Алматы тәлімді аймағы	39,4	41,3	33,2
Жамбыл облысы	51,0	43,0	45,0
Түркістан облысы	43,4	33,7	21,1
дәннің химиялық құрамы, %			
Ақуыз	7,3-14,8	10,7-13,0	7,9-15,8
Крахмал	57,1-67,6	60,9-67,3	58,7-66,8
Жир	1,7-2,3	1,9-2,4	1,7-2,2
Клетчатка	0,2-2,4	0,8-2,4	0,8-2,8
Күлділік	1,0-2,0	1,4-2,3	1,6-2,0
дән қаттылығы, %			
Алматы суармалы аймағы	15	26	20
Алматы тәлімді аймағы	21	29	35
Жамбыл облысы	29	31	28
Түркістан облысы	55	39	38
дәннің мөлдірлігі, %			
Алматы суармалы аймағы	39	45	44
Алматы тәлімді аймағы	59	58	87

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Жамбыл облысы	86	94	88
Түркістан облысы	97	53	95
дән натурасы, г/л			
Алматы суармалы аймағы	691	726	627
Алматы тәлімді аймағы	679	722	651
Жамбыл облысы	696	751	699
Түркістан облысы	637	637	680
ұн шығымы, %			
Алматы суармалы аймағы	68	69	67
Алматы тәлімді аймағы	68	66	67
Жамбыл облысы	70	59	67
Түркістан облысы	65	63	68

Дән мөлдірлігі бойынша Таза сортында ең жоғары дән мөлдірлігі (97%) Түркістан облысы жағдайында болса, ең төмен дән мөлдірлігі Алматы суармалы жағдайында (39%) байқалды. Тритикаленің Таза, Орда және Балауса 8 сорттарының натуралық салмағы өсіру жағдайына байланысты 627 г/л-ден 751 г/л-ге дейін ауытқыды (кесте 1). Орда сортының дән натурасы Таза мен Балауса 8 сорттарымен салыстырғанда едәуір жоғары (722-751 г/л) болды. Өртүрлі аймақтарда өсірілген тритикаленің үш сортында дән сапасымен қатар ұнның шығымы да анықталды. Ұн шығымы Таза сортында 65-70%, Орда сортында 59-69% және Балауса 8 сортында 67-68% құрады. Ең жоғары ұн шығымы Таза сортында Жамбыл облысы жағдайында, Орда сорты үшін Алматы тәлімді жағдайында және Балауса 8 сорты үшін Түркістан облысы жағдайында болғаны байқалды.

#### **Қорытынды**

Өртүрлі экологиялық нүктелерде өсірілген тритикале сорттарының 1000 дәнінің салмағы 21,1-51,0 г. аралығында ауытқыды. Зерттеу нәтижесінде ақуыздың мөлшері Таза сортында – 7,3-14,8%, Орда сортында – 10,7-13,0%, Балауса сортында – 7,9-15,8% құрады. Крахмалдың көрсеткіші Таза сортында – 57,1-67,6%, Орда сортында – 60,9-67,3%, Балауса сортында – 58,7-66,8% болды. Таза сортының Түркістан облысы жағдайында дәнінің қаттылығы 55% болса, Алматының тәлім жағдайында 21% және Жамбыл жағдайында 29% құрады. Таза сортында ең жоғары дән мөлдірлігі (97%) Түркістан облысы жағдайында болса, ең төмен дән мөлдірлігі Алматы суармалы жағдайында (39%) байқалды. Натуралық салмағы өсіру жағдайына байланысты 627 г/л-ден 751 г/л-ге дейін ауытқыды.

#### **Әдебиеттер**

- 1 Mergoum V., Gomez-Macpherson H. Triticale improvement and production. – Food and Agriculture organization of the United Nations. – Rome, 2004. – 36 p
- 2 Соцков Н.П. Достижения в селекции и особенности возделывания высоко-белковых сортов тритикале // ВНИИТЭИ Агропром. – 1991. – 12 с.
- 3 Горбунов В.Н. Селекционно-генетические аспекты синтеза новых форм тритикале и их использование в селекции на продуктивность: Дис. ... канд. с.-х. наук. – Белгород, 1994. – 24 с.
- 4 Федорова Т.Н. Цитологические и биохимические особенности тритикале. Обзорная информация // ВНИИТЭИ агропром. Серия растениеводство. – 1978. – 42с.
- 5 Шимечек К., Вацдавик П. Биологическая ценность белка и питательные качества зерна тритикале в опытах на крысах и свиньях. – М.: Колос, 1999. – 305 с.
- 6 Гуляев Г.В. Селекция озимых тритикале в Польше // Селекция и семеноводство – 1986. – № 2. – С. 55-57.
- 7 Сечняк Л.К., Сулима Ю.Г. Тритикале. – М.: Колос, 1984. – 299 с.

- 8 Орлова Н.С. Селекция тритикале в Нижнем Поволжье. – Дисс. ... докт.с-х наук. – Саратов, 2002. – 327 с.
- 9 Уразалиев А.Р., Кожемякин Е.В., Шегебаев О.Ш., Кожухметов К.К., Комплексная программа селекции агроэкоотипов озимой пшеницы для Казахской ССР (ОПАКС). – Кайнар, 1980 – 79 с.
- 10 Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
- 11 Национальный стандарт Российской Федерации. Тритикале кормовое. Технические условия. – М.; Стандартинформ, 2011. – 10 с.
- ӘОК 631.86

## ӨСІМДІК БИОСТИМУЛЯТОРЛАРЫНЫҢ ЖАҢА БУЫНЫ: ТҰРАҚТЫ АУЫЛШАРУАЛЫҒЫНЫҢ НЕГІЗІ

Н.О. Толепбаева, Б.Ш. Кедельбаев

*М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті, Шымкент қ., Қазақстан  
e-mail: [tolepbay@usc.edu](mailto:tolepbay@usc.edu)*

**Аннотация.** Мақала шолу қазіргі таңда тұрақты ауылшаруашылығын дамытуға, яғни табиғи таза өнімдерді алу мәселелеріне бағытталған. Мақала өзекті, зерттеулерді талап ететін, биостимуляторлар тобына жатқызылатын, кең спектрлі шикізаттардан алынатын препараттарды қарастыруға арналды. Олардың анықтамасы, классификациясы және әсері жайында талқыланды. Жаңа буын биостимуляторларын дайындаудың сипаттамасы берілді. Биостимуляторларды зерттеудің перспективалары қаралды.

**Кілттік сөздер:** *тұрақты ауылшаруашылығы, жаңа буын биостимуляторлары, гуминдік қосылыстар, протеин гидролизаттары, теңіз балдырлары сығындысы*

Соңғы жиырма жылдықта ауылшаруашылығы бағытындағы зерттеулердің арасында биостимуляторларды зерттеуге арналған ғылыми еңбектердің айтарлықтай көбейгені байқалады. Биостимуляторлар егін шаруашылығында егіннің өнімділігін арттыру, сапасын жақсарту және абиотикалық стресстерге төзімділігін қамтамасыз ету мақсатында пайдаланылатын инновациялық препараттар. Оларды пайдаланғанда тыңайтқыштардың қолданысы азаяды, себебі топырақтағы «пайдалы» микроорганизмдердің белсенділігі және өсімдіктердің топырақтан құнарлы заттарды сіңіруі артады [1]. Сонымен қатар, биостимуляторлардың құрғақшылық, тұздану, жоғары және төмен температура, ксенобиотиктердің кері әсері және т.б. стресстерге қарсы қасиеттері бар екендігі көрсетілген [2]. Биостимуляторлардың арасында патогенді саңырауқұлақтардан, нематодтардан және вирустардан қорғайтын қасиеттерге ие түрлері де кездеседі [3]. Биостимуляторларды пайдаланудың биохимиялық аспектілері өсімдіктердің гормондық статусы мен метаболизм процесінің өзгеруімен байланысты. Молекулалық және генетикалық аспектілеріне олардың түрлі гендер экспрессиясы мен аутомутагендік әсеріне ықпал етуі болып табылады. Биостимуляторлар фитогормондардың синтезделуін белсенді етуінен және ақуыздар, майлар, көмірсулар мен органикалық қышқылдар көп мөлшерде жиналуына мүмкіндік жасауынан биологиялық әсерлерінің болуы түсіндіріледі. Ал токсикологиялық және экологиялық-токсикологиялық аспектілері биостимуляторлардың төмен дәрежедегі уыттылығы, биологиялық ыдырағыштығы және метаболизмге түсетіндігіне негізделген. Сондықтан олар қоршаған ортаның ластану қаупін азайтады және азық-түлік шикізатының қауіпсіздігін қамтамасыз ету үшін өте маңызды. Биостимуляторларды пайдаланудың экономикалық аспектісі олардың өндірісінде энергия мен шығынның аз болуы, шикізаттың қол жетімділігі мен қалдықтың аз мөлшерде немесе жоқ болуы және бағасының арзан болуы мен ауылшаруашылық кәсіпорындардың кірісінің артуы болып табылады.

Биостимуляторлар шығу тегі мен құрылымына қарай органикалық микробтық емес өсімдік биостимуляторлары және микробтық өсімдік биостимуляторлары деп екі үлкен топқа бөлінеді. Органикалық микробтық емес өсімдік биостимуляторлары қатарына гуминдік қосылыстар, протеин гидролизаттары және теңіз балдыры сығындысы сияқты табиғи қосылыстар кіреді. Алғашқы екі категориясы нарықтың жартысын, ал балдырлар сығындысы жалпы нарықтың 37% құрайды [4].

Гуминдік қосылыстарға жататын гумин және фульво қышқылдары өлі органикалық заттардың биологиялық және химиялық трансформациясынан пайда болатын табиғи органикалық молекулалар [5]. Гуминдік қосылыстар топыраққа себу арқылы және кейбір жағдайда жапыраққа себу арқылы да пайдаланылады [6]. Гуминдік қосылыстар топырақтың құнарлы заттарын қолжетімді ету және соруадағы биостимуляторлық әрекеті бірнеше механизмдерге қатысады, атап айтқанда: топырақ құрылымын жақсарту, топырақ рН бейтараптандыру және катион алмасу сыйымдылығын жоғарылату, фосфордың ерігіштігін жақсарту және микронутриенттердің қолжетімді болуы, ауксинге ұқсас белсенділік есебінен бүйір тамырдың индукциясы мен тамыр түкшелерінің өсуін жақсарту, нитрат жиналуын ынталандыру. Гуминдік қосылыстардың биостимуляторлық әрекетіне топырақтың тыңаю жағдайы тығыз әсер етеді, себебі олар топырақтың нашар тыңаю жағдайында және органикалық заттар аз болғанда тиімділігі жоғары болады [7].

Гуминдік қосылыстардың өсімдік метаболизмі және физиологиясына тікелей және жанама әсерлерімен қатар биостимуляторлық белсенділігі стресстен қорғау, әсіресе, тұздылық пен құрғақшылыққа қарсы қасиетін бірнеше зерттеулерде көрсеткен [8]. Тұздылық пен құрғақшылыққа төзімділіктің болжамалы механизмдері: сутегі асқын тотығы мен липидті тотығуды азайту, пролин құрамын жоғарылату, ген экспрессиясының дифференциалды реттеу, тамырдың өсуін және топырақтың химиялық, микробиологиялық, физикалық қасиеттерін жақсарту [9].

Жануар және өсімдік негіздегі протеин гидролизаттары органикалық микробтық емес өсімдік биостимуляторлары маңызды санатына жатқызылады. Олардың негізгі компоненттеріне бос амин қышқылдарының қоспасы, олиго және полипептидтер сигналдық молекулалар ретінде қызмет атқарады. Протеин гидролизаттары көбінде жапырақтарға бүрку және тұқымды өңдеу арқылы пайдаланылады [10]. Бірнеше парниктік және далалық зерттеулерде протеин гидролизаттары өсу мен өнімділікті ынталандыратын физиологиялық және молекулалық процестерді іске қосу арқылы биостимуляторлық әсерін көрсету нәтижесінде дақылдардағы абиотикалық стресстерді азайтқан [11]. Биостимуляциялық белсенділік пен абиотикалық стресске төзімділігі негізіндегі тікелей әсерлеріне азоттың жиналу және көмертегі метаболизмі процестеріне қатысатын негізгі ферменттерді іске қосу, ауксин мен гибберелинге ұқсас белсенділікті жоғарылату және екіншілік метаболиттердің түзілуін, пигменттер биосинтезін, антиоксиданттық ферменттердің белсенділігін арттыру жатады [12]. Протеин гидролизаттарының егіннің өнімділігі мен қоректік жағдайына тікелей әсерлерінен бөлек жанама әсерлері де көрсетілген [13]. Протеин гидролизаттарын пайдаланғанда тамыр түкшелерінің диаметрі, тығыздығы және ұзындығы жағынан ұлғаяды да, топырақтан құнарлы заттарды сіңіру тиімділігі артады [14]. Сонымен қатар, соңғы уақытта шыққан шолуларда протеин гидролизаттары өсімдіктің микробиомындағы ризосфералар мен филосфераларға әсер ету арқылы топырақтан су мен қоректік заттардың сіңірілуін арттыруға мүмкіндік жасайды.

Теңіз балдырларына қоңыр, жасыл және қызыл макробалдырлар жатқызылады. Биостимуляторлар нарығында теңіз балдырлары ұнтақ, гранула, сұйықтық экстракт түрінде кездеседі. Коммерциялық теңіз балдырлары құрамында полисахаридтер, феноликтер, витаминдер прекурсорлары, осмолиттер, фитогормондар және гормонға ұқсас компоненттер болады. *Ascophyllum*, *Ecklonia*, *Fucus*, *Laminaria* және *Sargassum* қоңыр макробалдыр туыстары өсімдік биостимуляторы ретінде кеңінен қолданылады. Олардың өсімдік өсуіне

ықпал ететін, абиотикалық стресстерге төзімділік беретін және егінді жинағаннан кейінгі сапасы мен сақтау мерзімін жақсартуға ықпал ететіндігі анықталған. Теңіз балдырларының пайдалы әсерлерін анықтайтын механизмдерге микронутриенттердің көбеюі, гендердің дифференциалды реттелуі, ризобактериялар мен микоризалардың белсенділігінің артуы жатқызылады [15]. Органикалық микробтық емес өсімдік биостимуляторларының әсер ету механизмдері мен режимдері жайында айтарлықтай жетістіктер басылымға шыққанымен, оларды пайдалануды оңтайландыру, стандарттау, қолдану дозасы мен ұзақтығын анықтауға бағытталған қосымша зерттеулер қажет.

Микробтарға негізделген өсімдік биостимуляторларына өсімдіктің өсуін ынталандыратын ризобактериялар мен микоризалды саңырауқұлақтарды жатқызады. Өсімдіктің өсуін ынталандыратын ризобактериялар негізіндегі биостимуляторлар дайындауда *Azospirillum*, *Azotobacter* және *Rhizobium* туыстастары қолданылады. Өсімдіктің өсуін ынталандыратын ризобактериялар мен микоризалды саңырауқұлақтарға бағытталған бірнеше зерттеулерде олардың ризосфералық микробтық популяцияның сандық және сапалық жағынан реттей алатындығы топырақ экожүйесіне оң әсер ететіндігімен байланысты [16].

Бұл микробтық биостимуляторлар оптималды және субоптималды жағдайларда бірнеше тікелей және жанама механизмдерге, атап айтқанда, микроэлементтердің, қоректік заттардың, соның ішінде фосфор мен азоттың сіңірілуі мен қозғалуын жақсартуға, фотосинтездеу қабілетін жақсартуға, антиоксиданттық қорғаныш жүйесін күшейту, өсімдік гормондарын реттеуге, қоректік заттарды тасымалдау белсенділігін ынталандыруға, фосфотазалардың синтезделуі мен молекулалық массасы төмен және жоғары органикалық қосылыстардың ризосфераға бөлінуін белсенді етуге қатысады [17].

Ауылшаруашылық секторы органикалық және бейорганикалық тыңайтқыштарға тәуелділікті азайтуды мақсат етіп отыр. Бұл тыңайтқыштар қоршаған ортаға кері әсерін тигізеді және егіннің өсуі мен өнімділігін азайтатын топырақтың деградациясын тудырады. Биостимуляторлар азотты пайдалану тиімділігін жақсартатындықтан, дақылдарға абиотикалық стресстерді азайтатындықтан нарықта өз орнын табуға.

Соңғы жылдары биостимуляторлардың өзара әсерлері жайында зерттеулер жүргізіле бастады. Rouphael мақаласында микробтық және микробтық емес биостимуляторлардың өзара әрекеттесуінің тиімділігіне қарай үш түрін ажыратады: антагонистік, қосымша және синергиялық [18]. Антагонистік әрекеттесуде бірдей жағдайда биостимуляторлардың комплекстік әсерінің тиімділігі жеке-жеке пайдаланғаннан төмен болады. Қосымша әрекеттесуде биостимуляторлардың комплекстік әсерінің тиімділігі жеке-жеке пайдаланғанмен бірдей, ал синергиялық әрекеттесуде биостимуляторлардың комплекстік әсерінің тиімділігі жеке-жеке пайдаланғаннан жоғары болады. Осылай биостимуляторлардың өзара әсерлерін зерттеу олардың жаңаша әсерлерінің болатындығын көрсетеді.

Қазіргі кезде өсімдік биостимуляторларының қосымша немесе синергиялық әсерлерін бағалайтын эксперименталдық зерттеулер шектеулі. Зерттеулердің нәтижесі бойынша микробтық өсімдік биостимуляторлары гуминдік қосылыстармен, теңіз балдырлары сығындысымен немесе протеин гидролизаттарымен комбинацияланғанда өсімдіктің өсуі мен өнімділігіне көбірек пайдасын тигізеді [19].

Биостимуляторлар туралы әлемдік зерттеулерді талдай отырып, қазіргі таңда биостимуляторлар қатарына жататын өнімдерді өндіруші компаниялар тарапынан да, биостимуляторларды дайындау мен пайдаланудың аспектілерін зерттейтін ғалымдар тарапынан да, биостимуляторлардың өсімдіктерді қорғау жүйесіндегі орнын анықтайтын және нормативті-құқықтық реттеудегі негізгі критерийларды әзірлейтін мемлекеттік органдар тарапынан да нақты тенденция мен ұмтылыс қалыптасқан.

Алайда, биостимуляторлық әрекеттің негізінде жатқан молекулалық механизмдерді; өсімдіктің стресстерге төзімділігі мен өнімділігін жақсарту үшін биостимуляторларды пайдаланудың оңтайлы әдісі, уақыты және қолдану жиілігі қандай; биостимуляторларды

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

қолдану әдістерінің ішінде: жапыраққа сепкенде, тұқымды өндегенде немесе суарғанда микробтық популяцияға сандық және сапалық әсерлері қаншалықты; биостимуляторлардың синергиялық қасиеттеріне негіз болған физиологиялық және молекулалық механизмдер қандай деген сұрақтарға нақты жауаптарды табу мақсатындағы зерттеулер қажет.

**Әдебиеттер**

- 1 Яхин, О. И., А. А. Лубянов, И. А. Яхин. Биостимуляторы в агротехнологиях: проблемы, решения // *Агрохимический вестник*. - 2016.- № 1. – P.15-21.
- 2 Craigie J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture // *J. Appl. Phycol.* – 2011. - № 23(3). – P. 371-393.
- 3 Яхин И.А., Яхин О.И., Лубянов А.А. Разработка и механизмы действия препаративных форм антистрессовых биорегуляторов на основе биологически активных веществ растительного происхождения / Сб. тр. V Съезда Общества физиологов растений России. – Пенза, 2003. – С. 364-365.
- 4 European Commission (2018). *Proposal for a Regulation Laying Down Rules on the Making Available on the Market of CE Marked Fertilizing Products and Amending Regulations (EC)1069/2009 and (EC)1107/2009.COM(2018)*. Brussels
- 5 Canellas, Luciano P., et al. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture // *Scientia horticulturae* - 2015. - №196. – P. 15-27.
- 6 Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake // *Agronomy*. – 2015. – № 115. - P.141–174.
- 7 Du Jardin, Patrick. "Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation // *Scientia Horticulturae*. – 2015. - №196. – P.3-14.
- 8 De Pascale, S., Roupael, G. Colla. Plant biostimulants: innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming // *Eur. J. Hortic. Sci.* - 2017. - №82.6. - P. 277-285.
- 9 Petrozza, A., Santaniello, S., Di Tommaso, G., Di Tommaso, D., Paparelli, E., et al. Physiological responses to Megafol treatments in tomato plants under drought stress: a phenomic and molecular approach // *Sci. Hortic.* -2014 - №174. – P.185–192.
- 10 Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., et al. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture // *Sci. Hortic.* – 2015. - № 196. – P. 28–38.
- 11 Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., et al. Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome // *Front. Plant Sci.* – 2017. - №8. – P.2202.
- 12 Sestili, F., Roupael, Y., Cardarelli, M., Pucci, A., Bonini, P., et al. Protein hydrolysate stimulates growth and N uptake in tomato coupled with N-dependent gene expression involved in N assimilation // *Front. Plant Sci.* – 2018. - № 9. – P.1233.
- 13 Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., et al. Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome // *Front. Plant Sci.* – 2017. - №8. – P.2202.
- 14 Colla, G., Roupael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., and Cardarelli, M. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis // *Front. Plant Sci.* – 2014. - №5. – P.448.
- 15 Roupael, Y., De Micco, V., Arena, C., Raimondi, G., Colla, G., and De Pascale, S. Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions // *J. Appl. Phycol.* – 2017. - №29. – P. 459–470.
- 16 Battacharya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., and Prithiviraj, B. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture // *Sci. Hortic.* – 2015. - №196. – P.39–48.



17 Bitterlich, M., Roupheal, Y., Graefe, J., and Franken, P. Arbuscular mycorrhizas: a promising component of plant production systems provided favorable conditions for their growth // Front. Plant Sci. – 2018. - №9. – P.1329.

18 Roupheal Y., Colla G. Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture // Frontiers in plant science. – 2018. - №9. – P.1655.

19 Prakash, P., Mehdi, S., Saikia, S., Narendrakumar, G., Thirugnanasambandam, G., and Stanley Abraham, L. Production, formulation and application of seaweed liquid fertilizer using humic acid on growth of *Arachis hypogaea* // Biosci. Biotechnol. Res. Asia. – 2014. - №11. – P.1515–1519.

УДК 579.695

## ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОСТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

А.И. Токен<sup>1</sup>, Ж.А. Рамазанова<sup>1</sup>, Ф.К. Сарсекеева<sup>1</sup>, Д.К. Кирбаева<sup>1</sup>, Р. Маммадов<sup>2</sup>,  
Б.К. Заядан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

<sup>2</sup> Университет Муглы Сытқи Космана, кафедра молекулярной биологии и генетики, Мугла, Турция  
e-mail: fariza.sarsekeyeva@kaznu.kz

**Аннотация.** В статье представлена информация по использованию микроводорослей и цианобактерий для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, их влияние на рост растений. Приводится список перспективных штаммов микроводорослей и цианобактерий из коллекции фототрофных микроорганизмов КазНУ имени аль-Фараби, возможных продуцентов биостимуляторов роста растений

**Ключевые слова:** биостимуляторы, микроводоросли, цианобактерии, повышение урожайности сельскохозяйственных культур

В последнее время сельскохозяйственный сектор сталкивается с новыми вызовами по повышению производительности с целью накормить растущее население мира, одновременно уменьшая воздействие на окружающую среду и сохраняя природные ресурсы для будущих поколений. В сельском хозяйстве широко применяются различные стимуляторы и биологические активаторы роста растений. Стимуляторы применяются в частных хозяйствах, личных подсобных и приусадебных хозяйствах, на сельскохозяйственных производствах, в коллективных хозяйствах. Однако ни один из препаратов не является панацеей от всех напастей. Кроме того, указанная «экологическая безвредность» только кажущаяся.

Экологически чистым методом повышения урожайности является использование растительных биостимуляторов, которые, как ожидается, помогут снизить зависимость от химических веществ, в частности синтетических удобрений. Привлекательны в этом плане многочисленные группы фототрофных микроорганизмов – микроводоросли и цианобактерии [1,2]. Прежде всего, внимание к ним привлечено благодаря наличию азотфиксации [3] и широкому спектру адаптации к различным почвенным и гидротермическим условиям [4], но также немаловажно отметить их рост стимулирующие способности [5]. С точки зрения прикладного использования, они технологичны, что включает дешевые среды для культивирования (отсутствие в среде органических соединений и источников минерального азота) и быстрое накопление биомассы даже в экстенсивных культурах, не требующих дорогого оборудования [6]. Вместе с тем, на общем фоне исследований микроводоросли и цианобактерии не достаточно изучены в агробиотехнологии, кроме рисовых полей. А между тем применение этих потенциальных агентов может смягчить пагубные последствия абиотических стрессов, таких как засоленность и засуха. Поэтому внимание к этой группе

организмов в практическом аспекте сосредоточено на изучении их действия на растения и возможности составления на их основе рост стимулирующих препаратов для растений.

Известно что микроводоросли и цианобактерии синтезируют фитогормоны разной природы, в том числе, ауксины, цитокинины, гиббереллины, brassinosterолиды, задействованные в регуляции активации ростовых процессов [7]. Биостимулирующая активность экстрактов микроводорослей связана с содержанием первичных метаболитов (углеводов и белков, липидов), ключевых аминокислот (аргинин и триптофан), витаминов, осмолитов (пролин и глицин бетаин) и полисахаридов ( $\beta$ -глюкан) [8].

Интересно, что несколько штаммов микроводорослей, принадлежащих к семействам *Charophyceae*, *Chlorophyceae*, *Trebouxiophyceae* и *Ulvophyceae*, характеризовались фитогормоноподобной активностью, включая ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту и brassinosterоиды. Следовательно, выявление и выбор экстрактов микроводорослей, содержащих природные фитогормоны, в частности ауксины и цитокинины, которые считаются важными факторами для улучшения роста растений, урожайности и защитной реакции, особенно против абиотического стресса, можно рассматривать как увеличивающуюся возможность повышения ценности микроводорослей [9].

Микроводоросли содержат максимальное количество натуральных активных компонентов, необходимых для стимуляции роста и регуляции развития любых разновидностей флоры. Ученые выявили в структуре клеток планктона более 650 ценных ингредиентов, удачно сочетающихся и поддерживающих оптимальный баланс. Ауксины налаживают образование крепкой корневой системы и поступление через них питательных веществ. Гиббереллины отвечают за регуляцию процессов цветения и плодоношения. Цитокинины координируют развитие почек, ветвей, бутонов. Редкие элементы в составе суспензии хлореллы полноценно обеспечивают правильное соотношение веществ для безукоризненного протекания всего цикла развития растения [10].

Исследования показали, что суспензия микроводоросли *Chlorella vulgaris* обладает высокой продуктивностью и её применение в сочетании с органическими удобрениями позволяет повысить засухоустойчивость плодородного слоя, обеспечить стрессоустойчивость растений к природным катаклизмам (засухе, заморозкам, излишней влаге). Предпосевная обработка семян суспензией хлореллы резко повышает их всхожесть, силу и энергию роста всходов, устойчивость растений к природным факторам и повышает урожайность культур на 15–20%. Суспензия хлореллы обогащает почву органическими веществами, улучшающими ее структуру, стимулирует рост полезных почвенных микроорганизмов, способствует накоплению гумусовых веществ, повышает подвижность микроэлементов и содержание свободных аминокислот, улучшает ферментативную активность почвы и коэффициент использования азотных удобрений, утилизирует окислы тяжелых металлов, радионуклиды, пестициды, сокращает расход воды для полива, снижает заболеваемость растений. Введение суспензии хлореллы в почву ускоряет сроки созревания на 7–10 дней, способствует повышению урожайности. Отмечено, что внесение суспензии хлореллы в почву способствует увеличению количества полезных микроорганизмов до 400 млн клеток и более в 1 гр. Гумуса [11,12].

В качестве примера благотворного влияния суспензий зеленых микроводорослей на плодородие почвы и сельхозкультуры также можно привести данные по возделыванию ячменя ярового на лесной темно-серой почве. В вариантах где использовался штамм хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijer), которую вносили перед дождем, был отмечен более активный рост и увеличение урожайности надземной массы и зерна ячменя. При этом внесение Хлореллы повышало количество гуминовых кислот в почве. Авторы объясняют это бурным развитием микробиологических и биохимических процессов в почве. В результате образуются легкодоступные гумусовые вещества.

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Сотрудники института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси доказали высокую эффективность среды культивирования хлореллы как стимуляторы роста и развития растений. Согласно исследованиям, прайминг (замачивание), семян различных цветочных, овощных, зерновых и зернобобовых культур в разбавленной водой культуральной среде хлореллы (*Chlorella vulgaris*) увеличивает как всхожесть так и энергию прорастания семян [13].

Имеются также эксперименты доказывающие влияние цианобактерий на стимуляцию роста растений, так например учеными университета Sher-e-Bangla, Дакка, Бангладеш, была проведена оценка цианобактерий родов *Spirulina* и *Oscillatoria* как биоудобрение для производства бамии. В эксперименте использовался сорт BARI-1 окра и состоял из четырех опытов. Контроль (T<sub>0</sub>), *Oscillatoria* (T<sub>Os</sub>), *Spirulina* (T<sub>Sp</sub>) и *Spirulina* + *Oscillatoria* (T<sub>Sp+Os</sub>). Исследования показали, что индивидуальное применение *Spirulina* и *Oscillatoria* повышает рост растения, высоту стручка и листья образования в среднем на 25,5% [14].

Известны запатентованные изобретения предназначенные для стимуляции роста растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов. Способ предусматривает обработку семян и растений перед высадкой в грунт суспензией цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 в течение 1 часа. При этом суспензия содержит 5 г. сухой биомассы цианобактерий *Anabaena constricta* IPPAS B-2020 на 1 л воды. Изобретение позволяет повысить всхожесть семян и урожайность растений и их устойчивость к фитопатогенам [15]. Известен Штамм цианобактерий *Nostoc muscorum* f. *linckia* (Roth) Born et. Flash 28-1 106 - активный несимбиотический азотфиксатор из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии для повышения урожайности растений риса [16].

Стоит также отметить что, внесенные в грунт микроводоросли и цианобактерии разлагаются быстрее, чем органические удобрения, не засоряют почву семенами сорняков, личинками насекомых и спорами фитопатогенных грибов [13].

К сожалению исследования по их применению в качестве биостимуляторов роста растений в Казахстане до сих пор не проводились, но в коллекции фототрофных микроорганизмов лаборатории биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби имеются штаммы микроводорослей и цианобактерий (таблица) которые могут быть использованы для дальнейших исследований. Имеются штаммы выделенные из образцов почвы с рисовых полей и в данное время проводятся опыты по изучению их ростстимулирующей активности.

Таблица. Штаммы микроводорослей и цианобактерий коллекции фототрофных микроорганизмов лаборатории биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби, возможные продуценты биостимуляторов роста растений

№	Наименование штамма	Место выделения
1	<i>Oscillatoria</i> sp. KV-2	С горячего источника Карловы Вары (Чехия)
2	<i>Nostoc</i> sp. T-2	Из почв Алматинской области
5	<i>Spirulina</i> ZBK-1m-2	Методом селекции, исходный штамм из Коллекции культур водорослей лаборатории микробиологии СПбГУ г. Санкт-Петербург
6	<i>Spirulina</i> sp. BB-21	Выделен из почвы рисового поля села Бирлик, Балхашского района, Алматинской области.
8	<i>Chlorella</i> sp K-5	из Капшагайского водохранилища Алматинской области.
9	<i>Pediastrum</i> sp BB-3	Выделен из почвы рисового поля села Бирлик, Балхашского района, Алматинской области.
10	<i>Scenedesmus</i> sp BB-5	Выделен из почвы рисового поля села Бирлик, Балхашского района, Алматинской области.

International scientific and practical conference  
"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"

11	<i>Ankistrodesmus sp BB-17</i>	Выделен из почвы рисового поля села Бирлик, Балхашского района, Алматинской области.
12	<i>Desertifilum sp.IIPAS B 12-20</i>	Озеро Шарнур, Монгольская Республика

*Литература*

1 Макарова Е.И., Отурина И.П., Сидякин А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей – обитателей водных экосистем // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2009. Вып. 20 С. 120-133

2 Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе // Монография. Курск. 2014

3 Доброжан С.Н., Шалару В.В., Шалару В.М., Стратулат И.И., Семенюк Е.Н. Использование некоторых видов синезеленых азотфиксирующих водорослей в качестве биологического удобрения // Альгология. 2014. Т.24 №3. С.426-479

4 Акшинцев, А. А., Баренбойм, Г. М., Кириченко, В. Е., Никитина, В. Н., & Чернягина, О. А. (2016). Экстремальные природные воды и их биота: цианобактерии некоторых гидротерм Камчатки. *ВОДА: ХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ*, (1), 43-52. <http://elibrary.ru/item.asp?id=26696965>

5 Al-Shakankery, F. M., Hamouda, R. A. and Ammar, M. M. (2014). The primitive effect of different concentrations of marine algae as bio fertilizers on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) plants. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 4, 43201-43211.

6 Цоглин Л.Н., Пронина Н.А. Биотехнология микроводорослей. - Москва: Научный мир, 2012. - 184 с.

7 Tarakhovskaya E. R., Maslov Yu. I., Shishova M. F. *Fiziologiya rastenii* 2007. Vol. 54. No. 2. Pp. 186–193.

8 Шаларь В.В., Шаларь В.М., Маня Ш. Применение синезеленых водорослей в качестве стимулятора роста культурных растений // В сб: Актуальные проблемы современной альгологии: Тезисы докл. 1 Междунар. конф., Харьков, 2005. - С.64-65.

9 : <https://www.agroxxi.ru/gazeta-zaschita-rastenii/zrast/mikrovodorosli-i-biostimuljatory-ocenka-rynka-i-ego-problemy.html>

10 Мачнева Н.Л. Перспективы использования хлореллы в сельском хозяйстве / Н.Л. Мачнева, Г.А. Плутахин // Тезисы Третьей Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Научное обеспечение агропромышленного комплекса», 18–20 ноября 2009. – Краснодар. – С. 225.

11 [Гундарева Ю.А.](#)<sup>1</sup>, [Галахова Е.Н.](#) Суспензия *Chlorella vulgaris* - природный стимулятор развития растений. [V Международная научно-практическая конференция «Актуальные направления научных исследований: перспективы развития»](#). 2018.

12 Pankratova Je. M., Zyablykh R. J., Kalinin A. A., Kovina A. L., Tre-ilova L.V. Designing of microbial binary cultures based on blue-green algae (Cyanobacteria) *Nostoc paludosum* Kiltz // *International Journal of Algae*. - 2004. Т. 14, № 4. - С. 445-458.

13 Шалыго Н. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение. *Наука и инновации*. Т.№3.(193).2019. С. 10-12

14 Abul Faiz Md. Jamal Uddin, Md Rakibuzzaman, Eshita Wasayatun naher Wasin, Mst. Asmaul Husna and Anil Kumar Mahato. Foliar application of *Spirulina* and *Oscillatoria* on growth and yield of okra as Bio-fertilizer. *Journal of Bioscience and Agriculture Reserch*. Vol,22. Issue 02:1840-1844

15 Патент РФ. [RU2015143855A](#)2015-10-132015-10-13 Способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в аридной зоне

16 Патент РФ №1180366 БАТАЕВА Ю.В., ЕГОРОВ М.А., МАГЗАНОВА Д.К. и др. Стимуляция роста сельскохозяйственных культур семейства пасленовых (на примере томата

сорта "Новый принц") цианобактериями. Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности. АПК - продукты здорового питания, 2014, N1, с. 14-17.\*

УДК 577.3(024):502(075.8)

## О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

С.Т. Тулеуханов \*, Б.К. Кайрат

Казахский национальный университет имени аль-Фараби

\*e-mail: [Sultan.Tuleuhanov@kaznu.kz](mailto:Sultan.Tuleuhanov@kaznu.kz)

**Аннотация.** В настоящей работе представлены современные взгляды к проблемам экологического кризиса с точки зрения термодинамики. Рассматриваются причины, механизмы и пути борьбы с экокризисом.

**Ключевые слова:** экологический кризис, термодинамическое равновесие, энтропия, аутостабилизация, свободная энергия, связанная энергия, упорядоченность, экосистема, отрицательная обратная связь, положительная обратная связь

На современном этапе развития человечества мы столкнулись с экологическим кризисом. Экологический кризис возник с момента возникновения кризиса во взаимоотношениях человека со средой обитания.

Экологические исследования доказали, что живой мир – не простая совокупность существ, а единая система, сцементированная множеством цепочек питания и иных взаимодействий. Каждый организм может существовать только при условии постоянной тесной связи со средой, т. е. с другими организмами (микроорганизмы, растения, животные, люди) и физическими факторами окружающей среды (электромагнитные волны, давление, температура и т. д.). Полезная взаимосвязь между отдельными компонентами биосистем необходимы для их существования. Отдельные организмы не только приспособлены к физической среде, но своим совместным действием в рамках экосистемы приспособляют геохимическую среду к своим биологическим потребностям [1, 2]. Так, например, в создании кислорода атмосферы и органических веществ главную роль играет фотосинтез, который протекает по такой схеме: углекислый газ + вода + солнечная энергия (обязательно в присутствии ферментов, связанных с хлорофиллом) = глюкоза (углевод) + кислород.

Известно, что сбалансированность продуцирования и разложения есть основное условие существования всего живого в биосфере. Также показано, что отставание утилизации веществ, произведенного автотрофами, не только обеспечивает построение биоструктур, но и предполагает существование кислородной атмосферы. На современном этапе развития общества, человек (разумеется неосознанно) начинает ускорять процессы разложения в биосфере, сжигая органическое вещество (уголь, нефть, газ) и интенсифицируя сельскохозяйственную деятельность (сельхозтехника, биотехнология, химизация), которая повышает скорость разложения гумуса (гумус является самым устойчивым продуктом разложения, который необходим почве для роста растений) и в результате всего этого мы увеличиваем содержание углекислого газа в атмосфере, который, подобно стеклу, поглощает инфракрасное излучение, испускаемое земной поверхностью, создавая так называемый парниковый эффект. Люди оказываются как бы в гигантском и глобальном парнике со всеми вытекающими отсюда негативными последствиями для климата. Данная проблема сегодня является глобальной задачей человечества, существует Парижское соглашение по климату. Все это свидетельствует о серьезности климатической проблемы [3, 4].

Так, при изменении среднелобальной температуры на 10°C, т. е. в 1,5 раза от современного уровня, скорее она приведёт к нарушению действия принципа Ле-Шателье-Брауна [5, 6], т. е. принцип аутостабилизации. Отклонение от принципа Ле-Шателье-Брауна свидетельствует о снижении устойчивости стационарного состояния биосистем, т. е. приводит к нарушению равновесия. Сущность данного принципа также заключается в том, что при действии на систему сил, вызывающих нарушение равновесия, система переходит в такое состояние, в котором эффект внешнего воздействия ослабляется. Так, при повышении температуры равновесие смещается в сторону реакций, идущих с поглощением тепла, а при повышении давления – в сторону реакций, идущих с уменьшением объема; в обоих случаях конечные приросты температуры и давления будут меньше ожидаемых. Таким образом, и в природе, и в биологических системах все процессы нацелены на сохранение устойчивости системы, а искусственно созданные экологические проблемы направлены на нарушение равновесия этих систем [6].

Стационарное состояние организмов поддерживается с помощью механизмов ауторегулирования, имеющих отрицательную обратную связь. Работа таких механизмов у млекопитающих хорошо известна. Так, повышение температуры внешней среды, действуя на механизмы терморегуляции, приводит к уменьшению организмом теплопродукции и к увеличению теплоотдачи. За счет этого температура тела гомойотермных животных поддерживается постоянной в широком интервале изменений температуры среды. А вдыхание воздуха, содержащего повышенное количество углекислого газа, не приводит к стойкому увеличению его напряжения крови, потому что углекислый газ действуя на хеморецепторы, усиливает возбуждение дыхательного центра и интенсивность газообмена, что непременно приводит к снижению напряжения углекислого газа в крови до нормы. Также, поступление в организм с пищей большого количества солей не изменяет заметным образом осмотического давления крови, поскольку почки в этом случае начинают выводить гипертоническую мочу и компенсируют избыточное поступление солей. Таким образом можно заключить, что в биологических системах имеются специальные механизмы, поддерживающие устойчивость стационарного состояния организма, т. е. равновесие. И при действии на организм неблагоприятных экологических факторов постоянно совершается работа против этих факторов с целью сохранения равновесия биосистем.

Если биосистема испытывает небольшое внешнее воздействие, то равновесие сохраняется. А в случае действия возмущений система переходит от одного уровня стационарного состояния к другому, более выгодному при новых условиях. В этом случае все уровни лежат в пределах физиологических норм отклонений.

Доказано, что экосистемы, подобно организмам, способны к саморегулированию, противостоя изменениям и сохраняя состояние равновесия. Также, одной из важнейших задач экологии является исследование превращения энергии внутри экосистемы. С точки зрения изучения потоков энергии важны законы термодинамики. Согласно первому закону термодинамики энергия не может создаваться заново и исчезать, а только переходит из одной формы в другую, а согласно второму закону термодинамики процессы, связанные с превращениями энергии могут протекать самопроизвольно лишь при условии, что энергия переходит из концентрированной (свободной) формы в рассеянную (связанную), т. е. из этого следует, что энергия при любых превращениях стремится перейти в тепло (обесцененный вид энергии). Исходя из этого следует, что отличительной же особенностью биосистем, экосистем и биосферы в целом является способность создавать и поддерживать высокую степень внутренней упорядоченности и динамичности, т. е. состояния с низкой энтропией. Живые системы извлекают свободную энергию (негэнтропию) из окружающей среды [7].

Таким образом, можно заключить, что принцип равновесия играет в живой природе огромную роль. Равновесие существует между видами и смещение его в одну сторону, например уничтожение хищников может привести к исчезновению жертв, которым не будет

хватать пищи. Естественное равновесие существует и между организмом и окружающей его неживой средой. Многочисленное равновесие в конечном счете поддерживает общее равновесие в природе. Главная роль в поддержании этих равновесий отведено человечеству. Также установлено, что равновесие в живой природе не статично, как равновесие кристалла, а динамично, как движение вокруг точки устойчивости. Если эта точка не меняется, то такое состояние называется гомеостазом. Гомеостаз является механизмом, посредством которого живой организм, противодействуя внешним возмущающим воздействиям, поддерживает параметры своей внутренней среды на таком константном уровне, который обеспечивает нативную (нормальную) жизнь. Например, частота пульса, кровяное давление и температура тела – все это обусловлено гомеостатическими механизмами, которые работают настолько хорошо, что мы обычно их не замечаем. Так как, в пределах «гомеостатического плато» действует отрицательная обратная связь, благодаря которой эффект внешнего отрицательного действия снижается, т. е. согласно принципу Ле-Шателье-Брауна (аутостабилизация), а за пределами «гомеостатического плато» действует положительная обратная связь, которая приводит систему к неустойчивому стационарному состоянию и для данного состояния характерна максимальная скорость превращения энтропии. Особенностью неустойчивого стационарного состояния является наличие механизма самоусиления, работающего по типу положительной обратной связи. Благодаря положительной обратной связи внешние воздействия вызывают в неустойчивой стационарной системе нарастающие изменения, в результате которых система переходит или в устойчивое стационарное состояние, или в состояние термодинамического равновесия, т. е. это такое состояние системы, когда в системе свободная (не обесцененная) энергия равна нулю, а энтропия (хаос) имеет максимальное значение. Гибель биосистемы свидетельствует о наступлении термодинамического равновесного состояния. Обесценивание свободной энергии, которую мы получаем из внешней среды, приводит к термодинамическому равновесию [7].

Таким образом исходя из вышесказанного можно заключить, что, изучая и понимая сути основополагающих законов природы мы должны следовать принципам этих законов, а не стремиться подчинить природу, т.е. помогая природе необесценивать свободную энергию, сохранить равновесие между биосистемами и экосистемами и тем самым недопустить экологического кризиса.

#### *Литература*

- 1 Одум Ю. Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 321 с.
- 2 Медоуз Д. Пределы роста. – М.: Наука, 1991. – 205 с.
- 3 Реймерс Н.Ф. Надежды на выживание человечества. Концептуальная экология. – М.: Наука, 1992. – 168 с.
- 4 Инюшин В.М., Тулеуханов С.Т., Гумарова Л.Ж., Кулбаева М.С. Швецова Е.В. Экологическая биофизика. – Алматы: Қазақ университеті, 2016. – 100 с.
- 5 Тулеуханов С.Т., Аблайханов Н.Т., Швецова Е.В. Термодинамика биологических систем // Материалы международной научно-практической конференции «Теоретические и практические аспекты развития современной науки». – Бишкек: ИСИТО. – 2012. – С. 113-117.
- 6 Тулеуханов С.Т. Биофизика. Оқулық. – Алматы: ҚР ЖООҚ. – 2012. – 304 б.
- 7 Тулеуханов С.Т. Теоретическая биология. – Алматы: Қазақ университеті, 2004. – 72 с.

УДК 574.632

**ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ БИОЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ,  
ИСПОЛЬЗУЮЩИХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ДЛЯ НЕПРЕРЫВНОГО  
АВТОМАТИЧЕСКОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КАЧЕСТВА ВОДЫ  
РЕКИ ИЛИ**

С.Т. Тулеуханов<sup>1</sup>, В.М. Ольшанский<sup>2</sup>, С.В. Волков<sup>2</sup>, П.В. Машкин<sup>2\*</sup>, Вэй Сюэ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Республика Казахстан

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup>Филиал Харбинского инженерного университета, г. Яньтай, Китайская Народная Республика  
e-mail: [pmashkin@yandex.ru](mailto:pmashkin@yandex.ru)

**Аннотация.** Доминирующие химические методы контроля качества воды не позволяют определить синергетическое воздействие всех веществ, содержащихся в воде. Реальную токсичность воды можно оценить только на основании физиологических реакций живых организмов. В статье рассмотрены перспективы создания современных биоэлектронных комплексов для осуществления автоматического непрерывного контроля качества воды реки Или, Республика Казахстан. Проведенные нами предварительные исследования физиологических особенностей видов моллюсков во Вьетнаме, Китае и России позволили остановить выбор в качестве биосенсоров моллюсков родов *Nodularia* и *Sinanodonta*. Наши исследования показали, что для надежной регистрации обнаружения наступления момента биологически значимого уровня загрязнения воды необходимо одновременно контролировать движение створок, изменения формы кардиоимпульса и частоты сердечных сокращений. Авторами разработаны и изготовлены биоэлектронные приборы для автоматического контроля указанных параметров. На эти технические решения получены патенты РФ. Для проектирования и изготовления биоэлектронных приборов для работы в условиях Казахстана, необходимо провести НИР для изучения физиологических реакций выбранных видов в бассейне реки Или, коррекции схемных решений и программного обеспечения.

**Ключевые слова:** автоматические системы непрерывного биомониторинга, пульс мидий, река Или, загрязнение воды.

### **Введение**

Современный контроль за качеством воды должен осуществляться в непрерывном режиме. Традиционно применяемые для мониторинга водной среды химические методы в принципе не могут осуществлять непрерывный контроль тысяч веществ, содержащихся в воде, зафиксировать тот момент, когда синергетическое воздействие становится опасным для живых существ. А если учесть, что скорость синтеза новейших биологически активных веществ значительно превышает возможности всестороннего анализа их свойств, становится понятным, что без биологического контроля обойтись невозможно.

Биоэлектронные установки для осуществления непрерывного автоматического контроля, использующие в качестве биосенсоров двустворчатых моллюсков, начали создаваться еще в середине прошлого века [1, 2], но пока не получили широкого применения по ряду причин. Это обусловлено тем, что в случае обнаружения животными неблагоприятного воздействия, химическими методами редко удается найти вещества, которые это вызвали, поскольку синергетическое воздействие веществ совершенно не изучено. Но именно за этим методами мониторинга будущее, так как они позволяют оценить реальную токсичность воды для живых организмов.

Проблемы 'online' контроля состояния бассейна реки Или весьма актуальна. Необходимо быстро фиксировать случаи аварийных сбросов, определять источник, контролировать трансграничный перенос загрязнения для принятия мер по защите биоты и



населения. Для проектирования биоэлектронных приборов для работы в условиях Республики Казахстан необходимо опираться на результаты наших предварительных исследований в России, Китае и Вьетнаме. В первую очередь необходимо иметь данные о видовом составе и поведенческих особенностях местных видов двустворчатых моллюсков в норме, реакцию на изменение температуры, изменения режима питания, влияние освещения, а также их реакции хотя бы на ординарные виды загрязнения. Необходимо знать физиологические данные: максимальную амплитуду раскрытия и скорость движения створок, вариацию в норме частоты сердечного пульса, особенности реакция выдвигания «ноги».

#### *Проблемы выбора видов моллюсков в качестве биосенсоров*

На основании нашего опыта в регионах Азии мы считаем, что моллюсков для работы в установках в бассейне реки Или следует отбирать из незагрязненных участков водотока одного размера и возраста. Более того, следует отбирать моллюсков с одинаковыми темпами роста, определяемом по ширине годовых колец. Но, даже при таком строгом отборе, исходное накопление поллютантов в жабрах и печени может различаться на 50-70% (неопубликованные собственные данные). Это существенно влияет на индивидуальное поведение моллюсков в норме. Наши эксперименты с беззубками *Anodonta anatina* и перловицами *Unio tumidus* реки Оки показали, что эти виды могут спонтанно, находясь в чистой аэрированной воде, на 3-5 часов замедлять сердечный ритм, увеличивая время между сердечными сокращениями до 12-16 секунд и более, а затем восстанавливать его (рисунок 1). Чередование таких периодов хаотично. Это серьезно осложняет понимание того, что произошло: это резкое ухудшение качества воды или это индивидуальная особенность данной особи в данный момент. В этом случае следует ориентироваться на коллективную реакцию всей группы моллюсков. В реках Средней Азии, Китае, Вьетнаме широко распространены моллюски родов *Nodularia*, *Sinanodonta*, *Cristaria*. Наши эксперименты с первыми двумя видами показали, что они не подвержены «замирания ритма», имеют устойчивую амплитуду и форму кардиосигнала, устойчивый период между кардиоимпульсами в норме (рисунок 2).

При предъявлении стандартного стресс теста (погружение в 4% раствор NaCl в течение одного часа) частота сердечных сокращений у моллюсков резко уменьшается, амплитуда тоже уменьшается. Форма кардиоимпульса *Nodularia* сохраняется лучше, чем у *Sinanodonta*. Моллюски рода *Cristaria* имеют малую амплитуду сигнала из-за особенностей расположения сердца, форма сигнала близка к треугольной. Это вид не годится в качестве биосенсора. Не годятся также виды *Anodonta anatina* и *Unio tumidus* по причинам указанным ранее.

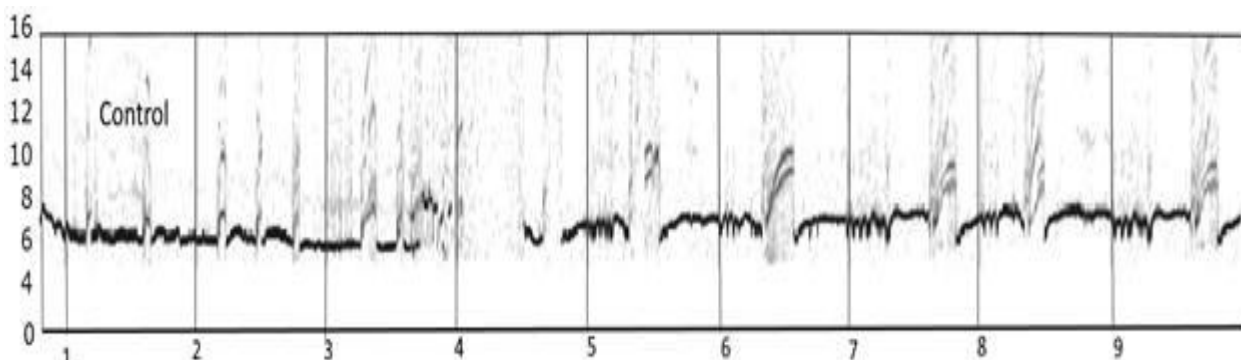
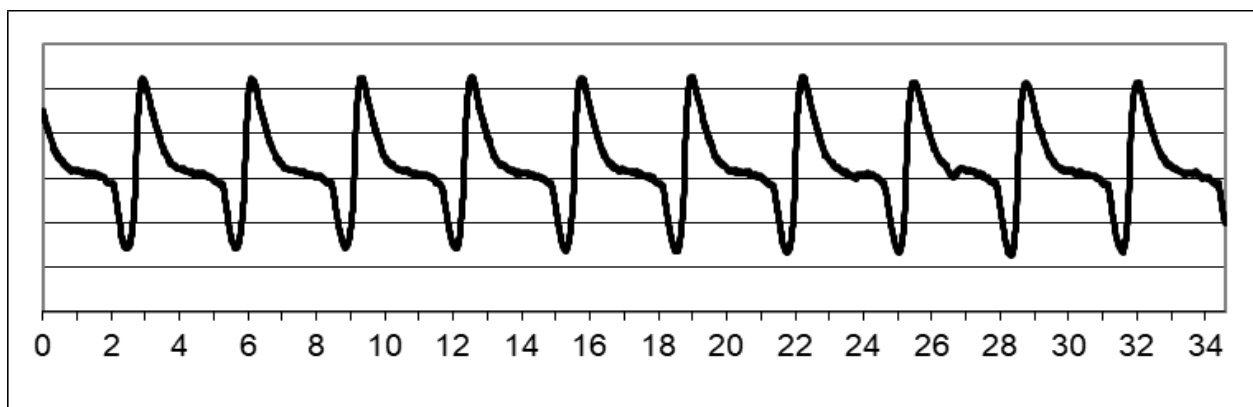
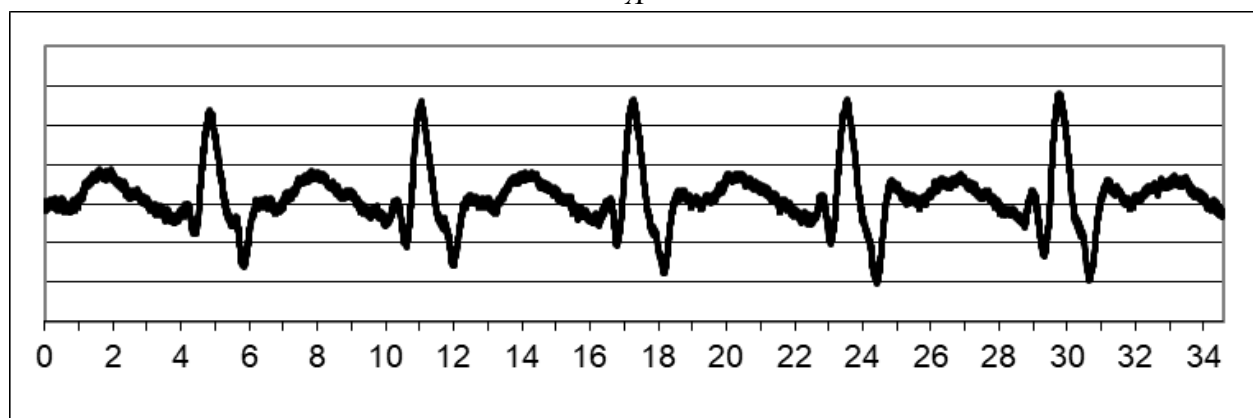


Рисунок 1. Ось ординат- время между ударами в секундах, по абсциссе время в сутках



A



B

Рисунок 2. Оптокардиограмма *Nodularia* (А) и *Sinanodonta* (Б)  
бассейна реки Сунгари, Китай

Для проведения экспериментов с целью изучения физиологических реакций моллюсков экспериментаторы практически всегда используют животных, взятых из природных водоемов. Но в природе эти моллюски накапливают определенное количество загрязняющих веществ и адаптировались к определенному уровню загрязнения. В статьях практически не приводятся данные о состоянии биотопа, из которого взяты животные и уровнях накопления поллютантов в тканях, поэтому данные различных авторов о порогах чувствительности одного и того же вида моллюсков к одинаковым агентам сильно различаются. Содержание поллютантов в тканях моллюсков может не коррелировать с их содержанием в донных отложениях створов. Поэтому недостаточно сделать только анализ донных отложений. Необходимо провести химический анализ накопления веществ в тканях моллюсков, отловленных в разных створах и выбрать животных из наименее загрязненного створа. В природных водоёмах моллюски могут быть подвержены различным заболеваниям.

Разработанные в настоящее время биоэлектронные приборы малых серий регистрируют или движения створок или сердечную активность. Наши эксперименты по изучению влияния на двустворчатых моллюсков *Anodonta anatina* токсичных nano частиц показали, что при значительном уровне токсичности веществ моллюски гибнут (полная остановка сердца), не успев закрыть раковину [3]. Это свидетельствует о том, что наиболее чувствительной к негативным воздействиям является нервная система моллюсков, которая управляет движением створок, ноги и модулирует сердечную активность.

*Технические аспекты разработки приборов.*

Форма, амплитуда сигнала с оптодатчика зависит от многих факторов. Во-первых, это зависит от положения оптодатчика. Внутреннее строение раковины в области расположения желудочка и толщина мантии, движение жидкости внутри раковины влияют на

индивидуальную форму и амплитуду сигнала. Форма сигнала сильно зависит от физического состояния моллюска. В настоящее время для контроля сердечной активности моллюсков широко используется оптопара CNY 70. Она успешно применяется для довольно крупных моллюсков, но имеющих тонкую (до 1 мм) гладкую раковину таких как *Anodonta*, *Sinadonta*, *Nodularia* и др. Для закрепления датчиков на раковинах мы используем конический пластиковый держатель, который клеится прямо на раковину водостойким клеем без её повреждения.

#### *Контроль движения створок.*

Движение створок является важным показателем состояния моллюска. Закрытие створок при неблагоприятных воздействиях происходит раньше, чем начинает реагировать сердце. На уровень раскрытия и динамику движения створок влияет температура, содержание освещенность, наличие пищи, звуки. Влияние загрязнения происходит на фоне этих естественных условий. Процесс открытия - закрытия раковины в свою очередь влияет на сердечный ритм. Ритм изменяется в случае, если моллюск выпускает «ногу» и пытается двигаться. Этот аспект поведения слабо изучен. Для контроля движения створок широко используются различные датчики Холла. Нами разработана принципиально другая система, имеющая более высокую чувствительность, использующая электрический метод. На этот метод получен патент [4].

#### **Обсуждение**

При проектировании биоэлектронных комплексов для организации биомониторинга реки Или следует учесть опыт работы в России, Китае и Вьетнаме. На начальном этапе необходимо провести ревизию видового состава бассейна Или и провести химические анализы уровня загрязнения донных отложений и тканей моллюсков в выбранных створах, определить те створы, в которых загрязнение ксенобиотиками наименьшее. Эти створы будут в дальнейшем опорными. Для изучения физиологических параметров необходимо выполнить значительный объем лабораторных исследований на имеющемся программно-аппаратурном комплексе. Программа исследований должна включать исследование движения створок и изменение сердечной ритмики моллюсков при изменении температуры, условий освещенности, содержания кислорода. На основании этих исследований можно произвести отбор наиболее подходящих видов. На основании этих данных можно будет изготовить малую серию устройств, регистрирующих одновременно сердечную ритмику и движение створок. Вторым этапом необходимо выполнить полевые исследования для коррекции схемных решений и программного обеспечения для выпуска рабочей серии приборов. В процессе работы над изготовлением биоэлектронных приборов необходимо провести обучение специалистов для работы в качестве операторов.

#### **Выводы**

1. Для создания отечественных современных биоэлектронных устройств для сети биомониторинга в бассейне реки Или имеется хороший задел. Наши исследования позволили определить перспективные виды моллюсков для использования в качестве биосенсоров. Это пресноводные моллюски родов *Nodularia* и *Sinanodonta*.

2. Над доработкой конструкций существующих запатентованных устройств необходимо продолжить совместную работу для изготовления приборов на современной элементной базе, которые смогут работать в полевых условиях Казахстана.

3. Программное обеспечение необходимо переработать для казахских пользователей с учетом требований Министерства экологии, геологии и природных ресурсов Казахстана.

#### *Литература*

1 Kramer K.J. M., Foekema E.M. The "Musselmonitor" as Biological Early Warning System // Environmental Science Research, Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change 2. – 2000. – Vol. 56. – P. 59-87.

2 Burnett N.P., Seabra R., de Pirro M., Wethey D.S., Woodin S.A., Helmuth B., Zippay M.L., Sarà G, Monaco C., and Lima F.P. An improved noninvasive method for measuring heartbeat of intertidal animals // *Limnol. Oceanogr.: Methods.* – 2013. – Vol. 11. – P. 91-100.

3 Kustov L.M., Mashkin P.V., Zakharov V.N., Abramenko N.B., Krysanov E.Y., Aslanov L.A., Peijnenburg W. Silicon Nanoparticles: Characterization and Toxicity Studies // *Environment Science.* – 2012. – No 1. – P. 3-9.

4 Патент РФ. «Устройство для контроля физиологического состояния гидробионтов» (19) RU (11) 2 627 457(13) C1 2016 г.

ӘОЖ:611.311.018:546.48:616.311.2-08:615.246.2

## ҚОРШАҒАН ОРТАНЫҢ ӨЗЕКТІ МӘСЕЛЕСІ - ЭНЕРГЕТИКАЛЫҚ СУСЫН ЗИЯНЫ

З.Б. Тунгушбаева, Г.С. Орынбай

<sup>1</sup>Абай атындағы Қазақ ұлттық педогогикалық университеті, Алматы қ., Қазақстан  
e-mail: gulzhaira.orynbay@mail.ru

**Аңдатпа.** Бұл мақалада бүгінгі күнде халық көп пайдаланатын және адам ағзасына зиянды газдалған сусындардың, оның ішінде – “*Gorilla*” сусынының зияны, бауырдың ұйымдасу құрылымында туындататын өзгерістері туралы мәліметтер берілген. Мәліметтер эксперимент жүргізу нәтижесінде алынды. Эксперимент Вистр саласына жататын ақ егеуқұрықтарға жүргізілді. Эксперимент кезінде жануарларға энергетикалық сусын – «*Gorilla*» екі жарым ай барысында тұрақты түрде судың орнына берілді. Екі жарым ай өткен соң дайындалған гистологиялық препараттарды зерттеу барысында, бауырдың ұйымдасу құрылымына сусынның зиянды әсер көрсеткені анықталды. Сусынның әсер көрсетуінен бауырдың гистологиялық құрылымы сақталмаған, яғни бұзылыстар дамыған және бауыр жасушалары гепатоциттердің ретсіз орналасқаны көрініс берді. Бауырдың ұйымдасу құрылымында туындаған мұндай өзгерістер ағзаға зиянды әсер көрсетіп, паренхималық белокты дистрофияға және лобулярлы гепатитке алып келуі мүмкін.

**Түйін сөздер:** *энергетикалық сусын, бауыр, гепатоцит, паренхималық дистрофия, лобулярлы гепатит.*

Энергетикалық сусындар қазіргі кезде көп елдерде алкагольсіз сусын ретінде кеңінен тараған. Энергетикалық сусынның зияны жайлы естіп, білсекте нақты қандай зиян келтіретінін көпшілік біле бермейді. Оның құрамында болатын кофеин, таурин, қант адамзат денсаулығына зиян келтіріп, түрлі ауруларға шалдықтыруда. Дәрігерлер мен ғалымдардың зерттеулеріне қарайтын болсақ, бұл сусын ішектің созылмалы ауруымен, асқазан, өт жолдарының ауруларына алып келеді [1,2].

Энергетикалық сусынды жиі қолдану ағзадағы мүшелердің қызметін бұзып, сырқаттар туындататынын жасөспірімдер мен жастар біле бермейді. Ғалымдардың зерттеу нәтижелері, ол сусын жүйке жүйесіне біраз уақыт күш беріп, ішкі мүшелердің қызметін біраз уақыт арттырады екен, ал содан кейін керісінше әлсіретеді. Жүйке жүйесін және ішкі мүшелерді тоздырады. Сусынның құрамындағы химиялық заттар жүрек пен жүйке жүйесіне қатты әсер етеді. Ол тахикардияға, жүйкенің ауытқуына, ашуланғыштыққа, депрессия, сусамыр сияқты аурулардың туындауына алып келеді. Қазір бұл сусынға жастар мен жасөспірімдер арасында сұраныс өте көптігі тек біздің елімізде емес көптеген елдерде өзекті мәселелердің бірі болып табылады [1,2].

Бауырға әсер ететін сыртқы орта факторларына: алкагольді сусындар, газдалған сусындар, ауыр металдар, химиялық қосылыстар және т.б. жатады [3].

Энергетикалық сусын жоғарыда аталған мүшелер сияқты атқаратын қызметіне байланысты бауырға да әсер көрсетеді, себебі бауыр (hepar) - ең үлкен ас қорыту безі. Омыртқалы жануарлар мен адамда бауыр - күрделі орган, ол организмдегі зат алмасу процесіне қатысады әрі онда ас қорыту сөлдерінің бірі - өт түзіледі. Бауырдың бет жағының ортасына қарай бауыр қақпасы деп аталатын көлденең ойық орналасқан. Ол арқылы бауырға артерия, қақпалық вена тамырлары, жүйке талшықтары өтеді де, одан лимфа тамырлары мен өт түтігі шығады. Бауыр қақпасының алдыңғы жағында өт қапшығы жатады. Бауыр қорғаныш қызметін де атқарады, яғни тамақ құрамында болып, ішекте сіңірілген зиянды заттар мен белок алмасуының нәтижесінде түзілетін қанның құрамындағы улы өнімдер бауырда залалсыздандырылады. Бауырдың лимфа түзудегі, қан ұюын реттеудегі және қанның тұрақты құрамын сақтаудағы маңызы өте зор.

Бауырдың негізгі қызметтері:

1. Ағзаны уытты заттардан тазарту – қоршаған ортадан алкоголь, дәрілік заттар, тікелей уыттар және т.б. арқылы жететін уытты қосылыстарды залалсыздандыру;
2. Липидті алмасуды реттеу (майлы қышқылдардың, холестериннің, липопотеиндердің және т.б. зат алмасуы);
3. Зат алмасу өнімдерін кәдеге жарату - тіршілік әрекеті үдерісі кезінде көптеген ыдырау уытты өнімдері (ацетон, фенол, кетондық қосылыстар) пайда болады;
4. Жыныс және бүйрек үсті бездерінің көптеген гормондарының тікелей синтезіне қатысуы;
5. Ағзаға түсетін витаминдер мен минералдарды реттеу, т.б. [4]

Сонымен, бауырдың омыртқалылар ағзасында атқаратын қызметі зор және маңызды екені белгілі, осыған байланысты біз ғылыми жұмысымызда энергетикалық сусынның бауыр, ащы ішек және аналық жыныс безінің ұйымдасу құрылымында туындататын өзгерістерді зерттеуді алдымызға мақсат етіп қойдық. Себебі, біз қарастырған әдебиеттерде энергетикалық сусынның бауырға, ащы ішекке және аналық жыныс бездерінің ұйымдасу құрылымына әсер көрсетулері туралы мәліметтер жоқтың қасы деп айтуға болады.

Қазақстандық зерттеушілер бірқатар ғылыми ізденіс жұмыстарын жүргізген. Мысалы, Назарова А. Н. (2015) «Әртүрлі сусындардың асқазан ұлпасына әсер көрсетуі» тақырыбындағы өзінің дипломдық жұмысында: 3 – ай бойы кока – кола сусынын жануарларға беріп, тәжірибе жүргізу барысында, бұл сусынның асқазанның ұйымдасу құрылымына зиянды әсер көрсететінін анықтап, клесі нәтижелер алған:

1. Асқазанның шырышты қабаттары ісінген, қан тамырларының таралуы мен стазы жүрген.
2. Асқазан бұлшық ет пластинкасының бұзылыстары дамып, сонымен қатар оның қалыңдауы мен бұлшық ет талшықтарының ыдырауы жүрген [5].

Ал, Оңғарбаева Г. Қ. (2014) «Ауыз суының бауыр ұлпаларының құрылымына әсері» тақырыбындағы диссертациялық жұмысының зерттеу нәтижесінде «Тассай» ауыз су құрамындағы заттардың жануарлар бауырының ұйымдасу құрылымына әсер көрсететіндігін анықтаған:

1. Бауыр ұлпалары эпителийінің ісінуіне, кейбір жасушаларының пикнозға ұшырауына алып келген.
2. Бауыр жасушалардың морфологиялық ұйымдасуында деструктивті өзгерістер мен мембранотоптық эффект түріндегі бұзылыстарды туындатқан [6].

Бүгінге дейін газдалған сусынның зияны туралы осындай көптеген деректер және зерттеулер бар.

Қазіргі таңда біз Вистр саласына жататын ақ түсті егеуқұйрықтарға энергетикалық сусын –«Gorilla» беріп олардың мүшелері - бауыр, ащы ішек пен аналық безінің ұйымдасу құрылымын зерттеу үстіндеміз.

### Материалдар мен әдістер

Тәжірибе Б.Атшабаров атындағы ІҚМҒЗИ Ғылыми – тәжірибелік орталығының зертханалық жануарлар виварийінде жүргізілді. Зерттеу 20 Вистр саласына жататын ақ егеуқұйрықтарға (4 бақылау, 16 тәжірибелік) екі жарым ай бойы «Gorilla» – энергетикалық сусын беру арқылы жүргізілді.

Тәжірибе барысында егеуқұйрықтар қалыпты виварийлік жағдайда, күнделікті бақылауда болды. Бақылау тобындағы егеуқұйрықтарға 200 граммдық шыны құтыға құйылған ауыз суы және қалыпты қоректік заттар күнделікті беріліп отырды. Қалған тәжірибелік топтағы егеуқұйрықтарға 200 граммдық шыны құтыға күнделікті «Gorilla» сусынын құйылды және виварийлік қалыпты қоректік заттар берілді. Жануарларға күнделікті морфологиялық бақылау жүргізілді. Жануарларды топа бөлу 1 кестеде көрсетілген.

Кесте 1. Зерттелген жануарлардың тәжірибелік топтары

№	Жануарлар топтар	Саны	Жүргізілген шаралар
1	Бақылау тобы	4 аталық	Виварийлік қалыпты қорек + ауыз су
2	Тәжірибелік топ	14 аталық	Виварийлік қалыпты қорек + «Gorilla» сусыны
3	Тәжірибелік топ	1 аталық+1 аналық	Виварийлік қалыпты қорек + «Gorilla» сусыны

Жануарларға морфологиялық бақылау жүргізу барысының 10 тәулігіне дейін өзгеріс байқалмады.

3 апта өткенде, II – тәжірибе тобындағы егеуқұйрықтың біреуі тіршілігін жойды, қалған егеуқұйрықтарда салмақтарының артуы және агрессиялық құбылыстар байқалды, бір – бірін тістелеп, тырнаған, кейбіреулерінде денесінің жабынды жүнінде қарайған өзгерістер байқалды.

1 ай өткенде, III – зерттеу тобындағы 1 аталық және 1 аналық егеуқұйрықтар бірінші 5 ұрпақты дүниеге алып келді, бұл ұрпақтар әлсіздеу, денесіндегі жабынды жүндері сиректеу болғаны байқалды.

2 ай өткенде III – зерттеу тобындағы егеуқұйрықтар екінші 5 ұрпақты дүниеге алып келді, бұл ұрпақтар әлсіз, денесіндегі жабынды жүндері өте сиреген, 2 – аптадан соң барлығы тіршілігін жойды.

Тәжірибе аяқталған соң II топтағы жануарларға жеңіл эфирлік наркоз беру арқылы декапитация жасалды. Декапитация «Зертханалық жануарларды қолданып, медико – биологиялық зерттеулер жүргізуге арналған Халықаралық ұсынысқа сәйкес декапитация» әдісімен жүзеге асырылды және бауыр, бүйрек, ащы ішек, асқазан, аталық және аналық жыныс бездері алынды. Алынған материалдар арнайы флакондағы 10% формалин құйылған флакондарға салынып, гистологиялық зерттеу жүргізуге дайындалып, әдеттегі үлгі бойынша гистологиялық препараттар дайындалды, гемаоксилин бояуымен боялып, бинокулярлы микроскоп ZEISS Primo Starмен гистологиялық зерттеу жүргізілді.

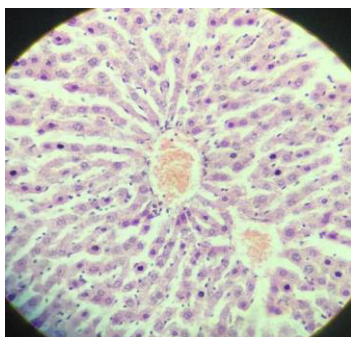
### Зерттеу нәтижесі

Бақылау тобындағы егеуқұйрықтың бауырынан дайындалған препаратты зерттеу барысында, оның гистологиялық құрылымы сақталған. Портальды венадан радиальді түрде күн сәулесіндей гепатоциттер орналасқан. Гепатоциттердің эпителиі ашық түсті, ядролары домалақ пішінді. Портальді тракт өт капилляры, артерия және вена капиллярларынан құралған. Бауыр капсуласы жұқа дәнекер тіннен түзілген (1 сурет). Тәжірибеге алынған егеуқұйрық бауырынан дайындалған препаратты зерттеу барысында гистологиялық құрылымы сақталмағаны, бұзылғаны байқалды. Гепатоциттері ретсіз орналасқан. Гепатоцит аралық кеңістіктер кеңейген. Гепатоцит цитоплазмаларының шекаралары айқын емес және

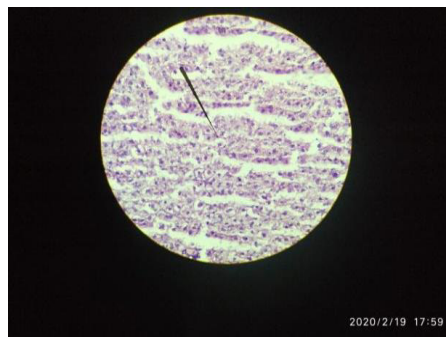
түйіршіктерге толған. Көптеген гепатоциттердің ядролары жойылған. Гепатоцит аралық кеңістіктерде ошақты лимфоциттер мен гистиоциттер жиналған. Кейбір гепатоциттердің ядролары маңынан ашық кеңістіктер байқалады. Ошақты бөліктік лимфогистицитарлы сінбелер және лобулярлы майда ошақты некроздар байқалады (2 сурет). Тәжірибелік топтағы препаратты зерттеу барысындағы анықталған өзгерістер келесі патологияларға алып келуі мүмкін. Паренхималық белокты (түйіршікті) дистрофия және гидропиялық дистрофия. Ошақты ядролардың және цитоплазмалардың некрозы. Патоморфологиялық көрінісі созылмалы лобулярлы гепатитке тән.

Гепатоцит – бауыр бөлікшелерінің бағандарын құрайтын, бауырдың қызметін іс жүзінде атқаратын жасушасы.

Гепатоциттердің негізгі қызметі - қанға немесе өтке бөлінетін белсенділігі әртүрлі заттарды сақтауға, түзуге, жинауға қатысады, ас қорытуға қажет өт бөліп отырады. Бұл процестердің бұзылуы төменде аталған ақаулықтарға алып келеді.



Сурет 1. Бақылау тобындағы бауыр кесіндісінің көрінісі, 40х



Сурет 2. Тәжірибелік топтағы бауыр кесіндісінің көрінісі, 40х

Дистрофия - жасушалар мен ұлпаларында зат алмасуының бұзылуына байланысты дамитын патологиялық өзгерістерді айтады, зат алмасу үрдісінің тек жасуша ішінде бұзылуы. Бұлар: 1) белоктық; 2) майлы; 3) көмірсулы паренхималық дистрофиялар деп бөлінеді.

Белоктық паренхималық дистрофиялар - жасушада белок алмасуының бұзылуымен қатар су-электролит алмасуы да өзгеріп, цитоплазмада су мөлшері өте көбейеді.

Сонымен, энергетикалық суынды екі жарым ай уақыт қабылдау бауырдың ұйымдасу құрылымына зиянды әсер көрсетіп, келесі өзгерістерді туындататынын көрсетті:

- Бауырдың гистологиялық құрылымы бұзылып, гепатоциттердің құрылысы өзгеріске ұшырайды;
- Гепатоциттердегі ядролардың жойылуы жүреді;
- Дистрофияға, созылмалы гепатитті дамытуы мүмкін;
- Лобулярлы гепатитке алып келуі мүмкін.

Осыған байланысты, энергетикалық сусынның зияндылығы туралы мақалалар жариялап, жастар мен оқушылар арасында дөңгелек үстел жүргізіп, болашақта жастардың дені сау болып өсуін және салауатты өмір салтын ұстануды үйрету қажет.

### *Әдебиеттер*

1 Жумабаев С., [Almaty-akshamy.kz/](http://Almaty-akshamy.kz/)Әлеумет/Энергетикалық сусындар адам ағзасына өте қауіпті. - 2019 № 28,29 (5222) с 27.

2 Курочкина М., [MySlide.ru](http://MySlide.ru). «Вред энергетических напитков» 2012-06-22.

3 Зелепухина Л.П.. Влияние энергетических напитков на организм человека //

Современные научные исследования и инновации. 2012. № 2 [Электронный ресурс] / сайт – <http://web.snauka.ru/issues/2012/02/7064> (дата обращения: 20.01.2016)

4 Рақышев А., Адам анатомиясы : оқулық - Алматы, 2004 ж. 151-156 б.

5 Онгарбаева Г.К., “Ауыз су сапасының бауыр ұлпаларының құрылымына әсері”. Дисс. биол.ғыл.канд. – Алматы: Абай атындағы ҚазҰПУ - Алматы. - 2014ж - 89 б.

6 Назарова А.Н., “Әр түрлі сусындардың асқазан ұлпасына әсер көрсетуі”. Дисс. биол.ғыл.канд. – Алматы: Абай атындағы ҚазҰПУ - Алматы. - 2015ж. - 115 б.

ӘОЖ 611.311.018.546.48.616.311.2-08:615.246.2

## ГАЗДАЛҒАН СУСЫН ӘСЕРІНЕН АТАЛЫҚ ЖЫНЫС БЕЗІНДЕ ТУЫНДАЙТЫН ӨЗГЕРІСТЕР

З.Б. Тунгушбаева, Қ.Х. Сайлаубек

*Абай атындағы Қазақ ұлттық педогогикалық университеті, Алматы қ-сы, Қазақстан  
e-mail: kazyra.12.1997@mail.ru*

**Аннотация.** Газдалған сусындарды жастардың көп қолдануы қазіргі таңда дүниежүзілік мәселені туындатып отыр. Қазақстанда жастардың осы сусындарды пайдалануы артпаса кемімеуде. Газдалған сусындарды жиі қолдану денсаулыққа кері әсер беретінін ғалымдар зерттеп, мақалалар жариялаған. Зерттеу барысында газдалған сусынның құрамында ағзаға зиян келтіретін қоспалар бар екені анықталды: ортофосфор қышқылы, кокаин, кофеин, сусынға түс беретін бояулар. Бояулар құрамында канцерогені қарақошқыл балқымалар және қатерлі ісікке алып келетін формальдегид – ол канцерогенге айналатын метил спиртін бөліп, ағзаға зиянды әсер көрсететінін бірқатар зерттеушілер мәлімдеген. Мысалы, профессор З.Б.Тұңғышбаеваның жетекшілігімен бірқатар зерттеу жұмыстары жүргізіліп, Кока-коланың бауырдың, бүйректің және өкпенің ұйымдасу құрылымына созылмалы әсер көрсетуі, осы мүшелерде өзгерістер туындататыны анықталды. Кока-кола құрамындағы жоғарыда атлаған қоспалар бүйрек пен бауыр құрылымдарында жасушалық деңгейдегі өзгерістер паренхиматоздық ақуызды-тамшылы дистрофияның дамуына алып келетінін көрсеткен.

**Кілттік сөздер:** *егеуқұйрық, аталық жыныс безі, ұйымдасу құрылымы, газдалған сусын, шәует каналшалары, сперматозоидтар, интерстиция, эпителиоциттер*

Американдық ғалымдардың пікірінше, газдалған сусындарда мазасыздық пен ұйқысыздық, дегидратация, ас қорыту жүйесінің тітіркенуі, жүйке жүйесі, терінің қызаруы, зәр шығарудың жоғарылауы, жүрек соғысының өзгеруін тудыратын жеткілікті ынталандырушы заттар бар екені туралы мәліметтер берілген [1,2,3].

Жоғары оқу орындарында студенттер арасында сауалнама жүргізу барысында респонденттердің көпшілігі (74,4 %) күніне бір банка мөлшерінде газдалған сусындарды тұтынғаны белгілі болды. Негізгі себептер-түнгі оқу кезінде өнімділіктің жоғарылауы (28%) және қарапайым қызығушылық (23%) және де бірқатары газдалған сусынды зиянды деп санайды (44,4%), студенттердің жартысы өздерін энергетикалық сусынға тәуелді емес деп санайды (51,2%). Нәтижесінде студенттердің 80% осы сусынды сүйіп ішетіндігі және оның ағзаға қандай зиян келтіретіні туралы мәліметпен таныс емес екенін анықталды [4,5]. Ал, бауыр мен бүйрек организмді токсинді заттардан қорғайтын және гомеостазды сақтайтын мүшелерге жатады. Сонымен қатар, бүйректің қызметі жыныс жүйесімен де тығыз байланысты болғандықтан, қауіпті өзгерістер репродуктивті жағынан байқалуы мүмкін. Бірақ, газдалған сусындардың жыныс бездеріне әсер көрсетуі біздің республикамызда өте аз зерттелген және газдалған сусындардың жаңа түрлеріде артуда [6,7].

Газдалған сусынды жиі қолдану ағзадағы мүшелердің қызметін бұзып, сырқаттар туындататынын жасөспірімдер мен жастар біле бермейді. Ғалымдардың зерттеу нәтижелері, ол сусын жүйке жүйесіне біраз уақыт күш беріп, ішкі мүшелердің қызметін біраз уақыт



арттырады екен, ал содан кейін керісінше әлсіретеді. Жүйке жүйесін және ішкі мүшелерді тоздырады. Сусынның құрамындағы химиялық заттар жүрек пен жүйке жүйесіне қатты әсер етеді. Ол тахикардияға, жүйкенің ауытқуына, ашуланғыштыққа, депрессия, сусамыр сияқты аурулардың туындауына алып келеді. Қазір бұл сусынға жастар мен жасөспірімдер арасында сұраныс өте көптігі тек біздің елімізде емес көптеген елдерде өзекті мәселелердің бірі болып табылады [8,9].

#### **Зерттеу әдістері және материалдары**

Тәжірибе Б.Атшабаров атындағы ІҚМҒЗИ Ғылыми – тәжірибелік орталығының зертханалық жануарлар виварийінде жүргізілді. Зерттеу үшін дене салмағы 180-200 г, жасы 5-6 айлық «Вистар» тұқымдасына жататын ақ егеуқұйрықтардың аталықтары таңдалып алынып, екі жарым ай бойы «*Gorilla*» – сусынын беру арқылы жүргізілді. Біздің бұл жануардың түрін таңдап алуымызға, биологиялық және медициналық эксперименттерде кеңінен қолданылатын жануарлардың бір түрі, осы тұқымдасқа жататын егеуқұйрықтарға жүргізілетіні негіз болды. Олардың тіршілік ету жағдайының диапазоны кең болғандықтан, әртүрлі мүшелері мен жүйелерінің реакциялары, адамның мүшелері мен жүйелерінің реакцияларына ұқсастығы да себепші болды. Сонымен қатар, маңызды басымдылығы, экспериментті көп жануарлар санына жүргізуге мүмкіндік бере алады. Эксперимент 20 егеуқұйрыққа жүргізілді. Жануарлардан 3 топ құрылды. Бірінші топ – бақылау тобы, екінші топ – Горилла газдалған сусынын 2 және 2,5 ай қабылдаған жануарлар, үшінші топ – Горилла сусынын 2 және 2,5 ай бойы қабылдаған жануарлар. Тәжірибе барысында егеуқұйрықтар қалыпты виварийлік жағдайда, күнделікті бақылауда болды. Бақылау тобындағы егеуқұйрықтарға 200 граммдық шыны құтыға құйылған ауыз суы және қалыпты қоректік заттар күнделікті беріліп отырды. Қалған тәжірибелік топтағы егеуқұйрықтарға 200 грамдық шыны құтыға күнделікті «*Gorilla*» сусынын құйылды және виварийлік қалыпты қоректік заттар берілді. Жануарларға күнделікті морфологиялық бақылау жүргізілді.

Зерттеу объектісі ретінде егеуқұйрықтардың аталық жыныс бездері экспериментальді және бақылау топтарынан алынды. Зерттелген жануарлар тобының саны 1 кестеде көрсетілген.

Кесте 1. Жануарларды топтарға және эксперимент мерзімдері бойынша бөлу

№	Жануарлар тобы	Эксперименттің басталу кезіндегі жануарлар саны	60 тәулік	75 тәулік	Эксперименттің соңындағы жануарлар саны
1	Бақылау тобы	8	4	4	0
2	Горилла сусынын қабылдағандар	10	5	5	0
3	Горилла сусынын қабылдағандар	1 + 1	2	2	2
6	Барлығы	20	9	9	2

Жануарларға морфологиялық бақылау жүргізу барысының 10 тәулігіне дейін өзгеріс байқалмады.

3 апта өткенде, II-тәжірибе тобындағы егеуқұйрықтың біреуі тіршілігін жойды, қалған егеуқұйрықтарда салмақтарының артуы және агрессиялық құбылыстар байқалды, бір-бірін

тістелеп, тырнаған, кейбіреулерінде денесінің жабынды жүнінде қарайған өзгерістер байқалды.

1 ай өткенде, III-зерттеу тобындағы 1 аталық және 1 аналық егеуқұйрықтар бірінші 5 ұрпақты дүниеге алып келді, бұл ұрпақтар әлсіздеу, денесіндегі жабынды жүндері сиректеу болғаны байқалды.

2,5 ай өткенде III-зерттеу тобындағы егеуқұйрықтар екінші 5 ұрпақты дүниеге алып келді, бұл ұрпақтар әлсіз, денесіндегі жабынды жүндері өте сиреген, 2-аптадан соң барлығы тіршілігін жойды.

Тәжірибе аяқталған соң II топтағы жануарларға жеңіл эфирлік наркоз беру арқылы декапитация жасалды. Жарық сәулелі микроскоппен аталық жыныс безін зерттеу үшін, материал 10% формалин ерітіндісінде фиксацияланды. Үлгілер қабылданған жалпы әдістер бойынша дайындалды. Мүшелер 5-6% таза балауса қосылған парафинді блоктармен қапталды. Микротомның көмегімен аталық жыныс безінің ұзына бойын бойлай және көлденең кесіндісі арқылы өткізілген қалыңдығы 5-6 мкм парафинді кесінділер дайындалды. Кесінділердің микроанатомиялық ұйымдасуын зерттеу үшін Майер гематоксилинмен, эозинмен, және азур II - эозинмен боялды. Боялған препараттардың беті канадалық бальзаммен жабылды.

### **Зерттеу нәтижесі**

Бақылау топтағы жануарлардың аталық жыныс безінен дайындалған препаратты зерттеу барысында құрамындағы ұрық шығару өзегі, бұлшық ет, қан айналу және лимфа тамырлары, нерв және шандырлар кіретін ұрық каналшасы анық көрініс берді. Ұрық шығару каналдарының эпителиоциттерінің мембраналары жақсы көрінеді, ядролары ортасында орналасқан, ұрық шығару бездерінің пішіндері домалақ, сопақша және бәрі біркелкі қатарласа орналасқан. Аталық без кесіндісі қима жазықтығына байланысты не домалақ не сопақша пішінді болып келеді. Ұрық каналшықтарының арасында дәнекер ұлпа мен Лейдиг жасушалары орналасқан. Лейдиг жасушаларының басты қызметі - сперматогенездің жүзеге асуына қажетті аталық жыныс гормоны тестостеронды синтездеу. Каналшықтың қабырғасын дифференцияланатын клеткалардан тұратын бірнеше қабат клеткалар түзеді. Олардың дамуы базальды мембранадан каналшықтың өзегіне қарай бағытталады. Каналшық қабырғасын сперматогенді эпителий клеткаларынан басқа соматикалық Сертолитті клеткалары құрайды. Олар трофикалық, тіректік, реттегіш және фагоцитарлық қызмет атқарады. Сертолитті клеткалардың арасында сперматогонийлер орналасады. Олар ірі ядролы және көлемі кішірек болып келген. Каналшықтың дәл ортасында сперматозоидтар орналасқан.

Тәжірибелік топтағы 2,5 ай мерзімінде сынақ жүргізілген жануарлардың аталық жыныс безінен дайындалған препаратты зерттеу барысында құрамындағы ұрық шығару өзегі, бұлшық ет, қан айналу және лимфа тамырлары, нерв және шандырлар кіретін ұрық каналшасының ісінгені анық көрініс берді. Ісіну барысында ұрық каналшықтарының пішіндері өзгеріске ұшыраған. Түтікшедегі жасуша аралық кеңістіктер артқан, кейбір түтікшелерде сперматидтер мен сперматозоидтар дұрыс қалыптаспаған, яғни кейбір сперматозоидтардың құйрықтары қалыптаспаған. Әдебиеттердегі мәліметтерден белгілі сперматозоидтың құйрығының құрылымында микротүтікшелер болатыны және ол тубулин ақуызынан тұратыны, яғни, сперматозоидтар құйрықтарының қалыптаспауы жасушалық деңгейде тұқым қуалайтын ақпараттың дұрыс берілмеуі немесе сусынның құрамындағы химиялық заттардың әсер көрсетуінен қажетті ақпараттың өзгеріске ұшырау нәтижесінен арнайы ақуыздың синтезделмеуіне байланысты болуы да мүмкін. Себебі, энергетикалық сусын құрамындағы қоспалар жануар организміне мутагенді әсер көрсетіп, тұқым қуалайтын ақпараттардың өзгерістерге ұшырауына алып келуі де мүмкін. Бездердің кеңейген қуысы қойыртпақ секретпен толып, сыртқы қабығын жарып, қойыртпақ эозинофильді массамен толған үлкен қуыс түзілген. Кистозды қуыс қабырғасы жіңішке және қалың дәнекер ұлпасынан құралған. Кистозды қуыстың ішкі аймағы емізікшелі және тубулярлы құрылымды құраған. Екінші

аймағы қоймалжың сұйықтық қуысты тубулярлы құрылымнан құралған. Олар тығыз фиброзды ұлпамен қоршалған.

Сонымен, энергетикалық сусын «Горилла» жануарлар ағзасына зиянды әсер көрсетіп, бірқатар өзгерістерді дамытты. Мысалы, сперматозоидтар қалыптасатын ұрық каналшалары ісінді, жасуша аралық кеңістіктері артты, сперматозоидтардың пішіндері өзгерістерге ұшырады. Ондай өзгерістер қатарына сперматозоидтар бастарының мойындарының және құйрықтарының дұрыс қалыптаспауын жатқызуға болады. Бұл өзгерістер келесі патологияларды туындатады: аспермия, олигоспермия, азооспермия, остенозооспермия, тератозооспермия. Аспермия - сперманың толық болмауы; Олигоспермия – бөлінген сперма көлемінде сперматозоидтар санының аз болуы; Азооспермия – бөлінген сперма көлемінде сперматозоидтардың болмауы; Остенозооспермия – сперматозоидтар қозғалысының төмен болуы; Тератозооспермия - сперматозоидтың басы мен құйрығы пішінінің дұрыс қалыптаспауы.

Сондықтан, жастар, студенттер, мектеп оқушылары арасында газдалған сусындарды шамадан тыс артық қолданудың зиянын түсіндіретін шаралар, кездесулер, домалақ үстелдер өткізу және жарнамалар жариялау қажет екені айқын.

### *Әдебиеттер*

1 «Алматы қаласының жоғары оқу орындары мен колледж студенттерінің тамақтануы бойынша зерттеу нәтижелері» AlmaU университетінің жаңалықтары // Ақпан 05,2020. [https://almatau.edu.kz/kz/news/almaty\\_kalasyyn\\_zhogary\\_oku\\_oryndary\\_men\\_kolledzh-12746](https://almatau.edu.kz/kz/news/almaty_kalasyyn_zhogary_oku_oryndary_men_kolledzh-12746).

2 Тунгушбаева З.Б., Нурмухамбетова Б.Н. Структурная организация десны при длительном воздействии разными дозами хлористого кадмия. Журнал Лимфология. – 2009. - № 1-2. - С.66-68.

3 Тұңғышбаева З.Б., Кожаметова А.Ж., Онгарбаева А., Маликқызы Г. Хлорлы кадмийдің бүйректің ұйымдасу құрылымында туындататын өзгерістері. Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2015. - № 2/2(64). – С. 485-488.

4 Елисеев В. Г., Афанасьев Ю.И., Котовский Е.Ф. Основы гистологии и гистологической техники. – Москва: Медицина. - 1967. -268 с.

5 Нұрышев М. Адам анатомиясы. –Алматы. – «Қарасай», 2006. Б.320.

6 А.В.Константинова, О.В.Щукина. Факторы, влияющие на сперматогенез. КГБУЗ «Краевой центр планирования семьи и репродукции», г. Красноярск. 2015. С 112.

7 «Айқын» газеті 237. 2010 ж. 29 желтоқсан

8 Онгарбаева А. «Экологиялық факторлардың бүйректің ұйымдасу құрылымына әсері». Магистрлік диссертациясы. – Алматы. – 2016. – 76 б

9 «Тәтті сусындар бала миының дамуына кері әсер етеді» // Астана. ҚазАқпарат, 31.07.2013. [https://www.inform.kz/kz/tatti-susynder-bala-miynyn-damuyuna-keri-aser-etedi\\_a2683210](https://www.inform.kz/kz/tatti-susynder-bala-miynyn-damuyuna-keri-aser-etedi_a2683210)

10 Айсин М. Ж., Алиева Г.К., Жануарлар морфологиясы. - Қостанай: А.Байтұрсынов атындағы ҚМУ. - 2016. –116 с.

ӘОЖ 2017235-44

## ЖАНУАРДЫҢ АЩЫ ІШЕГІНЕ ЭНЕРГЕТИКАЛЫҚ СУСЫННЫҢ ӘСЕРІ

З.Б. Тунгушбаева, А. Турсын

*Абай атындағы Қазақ ұлттық педогогикалық университеті, Алматы қ-сы, Қазақстан  
e-mail: Janai.9701@mail.ru*

**Аннотация.** Бұл мақалада қазіргі кезде кеңінен қолданылып жүрген энергетикалық сусындар әсерінен аш ішектің құрылымында болатын өзгерістер туралы ақпарат берілген. Деректер тәжірибе нәтижелері бойынша алынған. Тәжірибе Вистер аймағына жататын ақ егеуқұйрықтарға жүргізілді. Тәжірибелік жануарларға екі жарым ай бойы судың орнына энергетикалық сусын - «Горилла» берілді. Гистологиялық сынамаларды зерттеу нәтижесі сусынның ащы ішектің ұйымдасу құрылымына зиянды әсер ететіндігін көрсетті.

**Кілттік сөздер:** *Ащы ішек, энергетикалық сусын, егеуқұйрық, дистрофия, некроз*

Дәрігерлер мен ғалымдардың сараптамасына назар аударсақ, энергетикалық сусындар асқазан, өт жолдарының ауруларына алып келеді, сусын ішкен жасөспірімдер арасында семіру жиілеп, агрессиясы артады екен [1]. Қазақ тағамтану академиясы, «Аман-саулық» ҚҚ және Алматы Менеджмент Университеті Алматы жоғары оқу орындары мен колледждері арасында студенттердің тамақтануы бойынша зерттеу жүргізіп, сауалнама алған: студенттерінің 31%-ға жуығы және колледж студенттерінің 24%-ы денсаулықтарындағы мәселелердің фаст фуд және энергетикалық тәтті сусындарды тұтынуымен байланысты екенін мойындайды. Бұл ретте ЖОО студенттері 69%-да, колледж студенттері 56% - да медициналық көмекке жүгінген [2]. Энергетикалық сусындарды көп мөлшерде қабылдау, ағзадағы сулы - тұзды балансты бұзады, оның үстіне газдалған болғандықтан денсаулығымызға пайдасынан зияны көп. АҚШ-та 2018 жылы \$11 миллиард қаражатқа энергетикалық сусындар сатылған, бұл бір елдің ғана көрсеткіші. Одан қаншама адамдардың денсаулығы зиян шеккенін ескерсек, мақтануға тұрарлық жағдай емес. Әлем бойынша танымалдылығы артып келе жатқан Gorilla Energy-дің де тұтынушылары көбейіп келеді. Бұл мықты сусынды жарнамалап жатқан жұлдыздар да көп. Оның ішінде UFC чемпионы дагестандық Хабиб Нурмагомедов те бар. Көпке танымал спортышылар жас фанаттардың энергетикалық сусынның үлкен сұранысқа ие болуына өз үлесін қосып жатыр. Қазір Қазақстанда да «Gorilla Energy» ересектер мен жастар арасында үлкен сұранысқа ие [3].

Мәлікқызы Г. диссертациялық жұмысында Кока-Кола сусынын жануарларға 60 тәулік бойы беріп, асқазанының ұйымдасу құрылымын зерттеу барысында, оның барлық компоненттерінде өзгерістер болғандығын анықтаған. Асқазанның шырышты қабатындағы эпителиоциттердің сылынуы, кейбір бөліктерінде қанның құйылуы, бездерінің ісінуі, жасуша аралық байланыстардың бұзылуы, шырышты сұйықтықтар азайған, эпителиоциттердегі бүрлер кішірейіп, атрофия және дистрофия көріністері жүріп, ұлпаларда жаралар пайда болғанын байқаған. Бұл өзгерістер газдалған сусын кока-коланың асқазан ұлпаларына токсинді әсер көрсеткенін дәлелдейді [4]. Оңтүстік Калифорния университетінің қызметкерлері жасөспірім күніне бір құты газдалған сусын ішсе, есте сақтау қабілеті нашарлайды деген қорытындыға келді. Сондай-ақ, энергетикалық сусын олардың білім игеру қабілетіне де кері әсер көрсетеді. Дәрігерлер мен ғалымдардың сараптамасына назар аударсақ, энергетикалық сусындар асқазан, өт жолдарының ауруларына алып келіп, денсаулықтарының бұзылатыны мәлімделген [5]. Бірақ, жастар мен жасөспірімдер арасында бұл тәтті газдалған сусындарға сұраныстың күн сайын артып келе жатқаны тек біздің елімізде ғана емес көптеген елдерде өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Яғни, жастар денсаулығының төмендеуі арта түспек.

Осыған қарай отырып энергетикалық сусындарың жануарлар мүшелеріне әсері, соның ішінде ащы ішек құрылымында тудыратын өзгерістерін қарастыру маңызды. Ішек бүрлері арқылы қорытылған тағамдар қанға сіңіріліп, бүкіл ағзадағы мүшелерге тарайды. Яғни, егер ащы ішекке зиян келсе, ішек қана зақымданып қоймай, басқа мүшелер де жарақаттануы мүмкін.

Ащы ішек ас қорыту жүйесінің ең ұзын бөлігі болып табылады. Ішектің ішкі бетінде бүрлер болғандықтан, барқыт секілденіп көрінеді, солардың қатысымен белок, май мен көмірсудың ыдырау өнімдері қанға сіңеді. Бүршіктердің өте көп болуы аш ішектің кілегейлі қабықшасының сіңіру бетін едәуір арттырады. Бүрдің әрқайсысына қан тамырлары мен лимфа тамырлар келеді. Олар қоректік заттардың суда еріген ыдырау өнімдерін өзіне сіңіріп алады. Сіңіру дегеніміз - сүзілу, диффузия секілді таза физикалық процесс қана емес, сонымен қатар ол қоректік заттардың бүрлерден өтуі арқылы жүзеге асатын физиологиялық процесс болып табылады. Бүрлер ішектерде тіршілік ететін микроорганизмдердің қан лимфаға өтуіне кедергі жасай отырып, қорғану қызметін де атқарады [6].

### **Материалдар мен әдістер**

Зерттеу-тәжірибе жұмыстарына Вистар саласына жататын, жалпы саны 20 егеуқұйрық алынды. Жануарлар 4 бақылау, 16 тәжірибелік етіп топтарға бөлдік. Барлығының қоректіктенуі, өмір сүру орта температурасы бірдей, тек бақылау тобы егеуқұйрықтарына күнделікті тұтынатын ауыз суы, тәжірибелік топтағы жануарлар үшін энергетикалық сусын «Gorilla» таңдалып, белгіленген мерзім ағымында 200мл-лік құтымен беріліп отырды.

Алғашқы кезеңдерде жануарларда бәрі бірқалыпты болып, еш өзгеріс байқалмады. Екі апта уақыт өткеннен соң энергетикалық сусын әсерінен, сыртқы морфологиялық көріністерінде өзгерістер (жақтарында ісіну, көздерінің кішіреюі, жүндерінде қара дақтар) пайда бола бастады, егеуқұйрықтардан агрессия байқалды (бірін-бірі тырмалауы, бірін-бірі тістелеуі).

3 апта өткеннен кейін II топтағы бір егеуқұйрық өз тіршілігін тоқтатты. IV – зерттеу тобындағы 1 аталық және 1 аналық егеуқұйрықтар бір айдан соң алғашқы 5 ұрпақ туды. Ұрпақтары морфологиялық жағынан қалыпты және тәжірибелік жұмыстар кезінде тіршілігін сақтап қала алды. Ал, осы топтың II ұрпақтары туылған соң, 2 – аптадан кейін тіршіліктерін жойды. Осыған байланысты энергетикалық сусынның жыныс жүйесінің құрылымында өзгерістер туындатуы мүмкін деген күмәніміз болды.

Тәжірибелік жұмыстар жүргізіліп жатқанына 2,5 ай өткен соң зертханалық жануарларды қолданып, гистологиялық зерттеулер жүргізуге декапитация жасалды, тәжірибелік және бақылау топтарындағы егеуқұйрық ащы ішектерінен кесінді алынып, гистологиялық препараттар дайындалды.

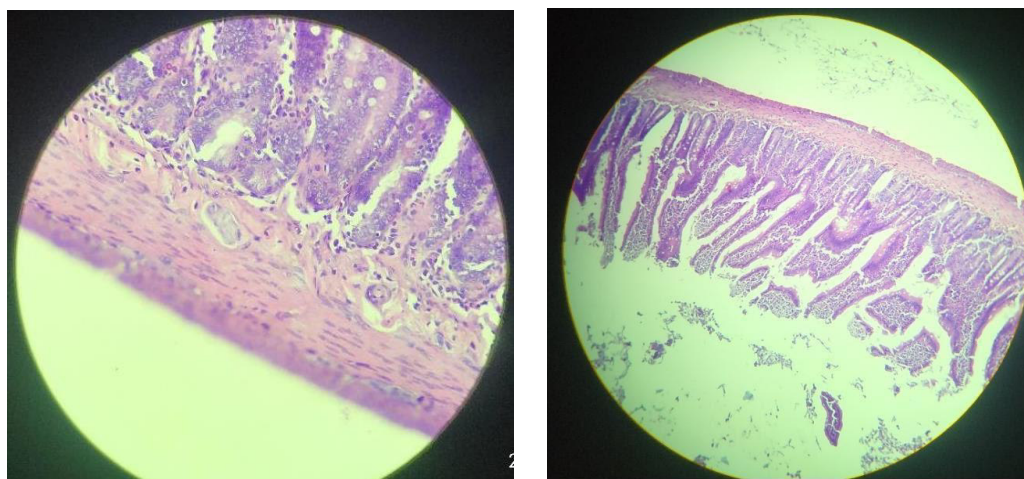
Екі жарым ай жүргізген тәжірибеден кейін, бақылау және эксперименттік топтардан алынған жануарларға жеңіл эфирлік наркоз беру арқылы декапитация жасалды. Декапитация барысында эксперименттік топтағы жануарлардың ішкі мүшелерін бақылау тобындағылармен салыстырғанда бірқатар ерекшеліктер, мысалы, асқазаны, ащы ішегі, бауырының қатты ісінгені, май басқаны, бауырында қызыл теңбілдер пайда болғаны байқалды. Ащы ішектің ұйымдасу құрылымындағы өзгерістерді зерттеу үшін, тәжірибелік және бақылау топтарындағы егеуқұйрық ащы ішектерінен кесінді алынды. Алынған материалдар арнайы флакондағы 10% формалин құйылған флакондарға салынып, гистологиялық зерттеу жүргізуге гистологиялық препараттар дайындалды, гемаоксилин бояуымен боялып, бинокулярлы микроскоп ZEISS Primo Starмен гистологиялық зерттеу жүргізілді.

### **Зерттеу нәтижесі**

Бақылау тобындағы жануарлар ащы ішегінің ұйымдасу құрылысын зерттеу барысында, оның кілегейлі, етті және сірлі қабықтардан тұратыны көрініс берді. Кілегейлі қабығының эпителий қабатында сіңіру бетін ұлғайтатын қатпарлар, ішек бүрлері, ішек кірмелері,

микробүрлері орналасқан. Кілегейлі қабықтың ішкі бетіндегі бүрлер мен крипталар бір қабатты призма тәрізді жиекті эпителиймен қапталған. Ащы ішегінің эпителий қабығының ішек қуысы мен қалыңдығы және өлшемдері біркелкі.

Бақылау тобы егеуқұйрықтарының ащы ішегінде шырышты қабатта гиперплазия белгілері жоқ лимфоидты фолликулалар байқалады. Бұлшық ет қабаты дөңгелек және ұзына бойымен қалыңдығы біркелкі екені көрініс берді. Бұлшық ет аралық қабатындағы нерв ұштары біркелкі таралған, оларда нейрониттерді байқауға болады (1 сурет).

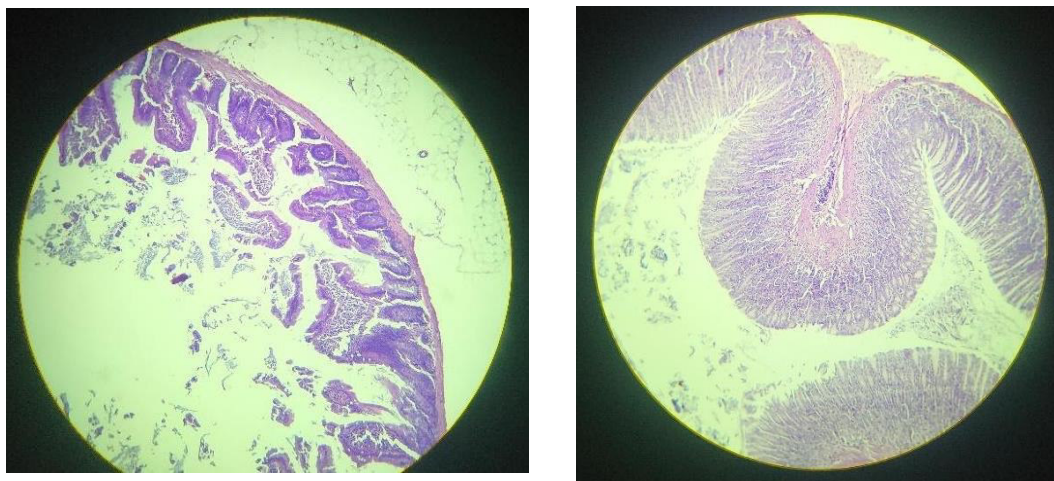


Сурет 1. Бақылау тобындағы ащы ішек кесіндісінің көрінісі  
Гематоксилин-эозинмен боялған

Эксперименттік топтағы егеуқұйрық аш ішек қабаттардың көлденең қималарында ісінуі байқалады. Қабаттар шырышты, шырыш асты негізден, ішкі циркулярлы, сыртқы ұзына бойлы бұлшық ет және серозды қабықтардан тұратыны көрініс берді. Шырышты қабықтың крипталары көп. Сонымен қатар, шырышты қабатта фибриннің жұқа қабатымен жабылған шынайы эрозиялар дамыған және эпителийдің жабынды қабаты қабыршақтанған.

Егуқұйрықтардың ащы ішегінің кей жерлерінде крипталар деформацияланған және плазмоциттермен мол инфильтрацияланған, құрамында ішектің эпителий жасушалары, бокал тәрізді жасушалар бар. Деформацияланған крипталар жалаңаш, цилиндр тәрізді жасушалардан тұратын эпителийі жоқ. Сақталған крипталардың кейбірі жұқа, ал кейбіреулері қалыңдаған және қысқарған.

Шырыш асты негізде лимфоциттер мен гистиоциттер инфильтрацияланған. Шырыш асты негіздегі лимфа түйіндерінің пішіні пакет тәрізді болып ұлғайғаны байқалды. Бұлшық ет қабаты созылған, жіңішкерген жерлері жұқа таспа сияқты болып көрініс берді. Бұлшық еттегі аралық жүйке талшықтарының соңы жағы ауыр гидропиялық дистрофияға және некрозға ұшырағаны байқалды (2 сурет).



Сурет 2. Тәжірибелік топтағы ащы ішек кесіндісінің көрінісі  
Гемотоксилин-эозинмен боялған

Жүргізілген тәжірибе бойынша келесі тұжырымдар жасалды:

1. Энергетикалық сусындар ащы ішекте май жасушаларын арттырып, қызметін және ұйымдасу құрылымын бұзып, кері әсер көрсетті;
2. Бұлшық ет қабаты созылып, жіңішкерді. Бұлшық еттің аралық жүйке талшықтарының соңы жағы ауыр гидропиялық дистрофияға және некрозға ұшырады.
3. Ащы ішектің қабаттары энергетикалық сусынның әсер көрсетуінен ісінді, крипталар саны артып, пішіндері деформацияланады. Ішек жасушаларында зат алмасудың бұзылуын туындатты.

#### *Әдебиеттер*

- 1 Мұстафина А., «Энергетикалық сусындардың пайдасы мен зияны» // massaget жастар порталы, 02.04.2014. URL:<https://massaget.kz/layfstayl/Zdorove/17905/> (жүгіну мерзімі 20.12.2020).
- 2 «Алматы қаласының жоғары оқу орындары мен колледж студенттерінің тамақтануы бойынша зерттеу нәтижелері» AlmaU университетінің жаңалықтары // Ақпан 05, 2020. [https://almau.edu.kz/kz/news/almaty\\_kalasyynyn\\_zhogary\\_oku\\_oryndary\\_men\\_kolledzh-12746](https://almau.edu.kz/kz/news/almaty_kalasyynyn_zhogary_oku_oryndary_men_kolledzh-12746).
- 3 Түйетаев А., «Бір сағаттық «энергия» үшін бар тісіңізді түсіріп жүрмеңіз» // Q-content ақпараттық порталы, 18.09.2019. URL: <https://q-content.kz/?p=261> (жүгіну мерзімі 10.12.2020).
- 4 Мәлікқызы Г. Жануарлар ағзасына мутагендік факторлардың әсер етуін мектептегі зертханалық сабақта қарастыру. - Дисс. биол.ғыл.канд. – Алматы: Абай атындағы ҚазҰПУ, 2016. – 71 с.
- 5 «Тәтті сусындар бала миының дамуына кері әсер етеді» // Астана. ҚазАқпарат, 31.07.2013. [https://www.inform.kz/kz/tatti-susynder-bala-miynyn-damuyna-keri-aser-etedi\\_a2683210](https://www.inform.kz/kz/tatti-susynder-bala-miynyn-damuyna-keri-aser-etedi_a2683210)
- 6 Айсин М. Ж., Алиева Г.К., Жануарлар морфологиясы. - Қостанай: А.Байтұрсынов атындағы ҚМУ. - 2016. –116 с.

УДК 573.6:631.527

## СОЗДАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ СИСТЕМ IN VITRO ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ

Р.М. Турпанова<sup>1</sup>, К.Ж. Сыман<sup>2</sup>, А.И. Тасанбиева<sup>1</sup>, Жолжақсы А.Қ<sup>1</sup>, Д.К. Кулжанова<sup>2</sup>,  
Ыскак Камшат<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева*

<sup>2</sup>*Казахский Национальный педагогический университет имени Абая*

*e-mail: [Rauza\\_ENU@mail.ru](mailto:Rauza_ENU@mail.ru)*

Стрессовым может быть любой внешний фактор, вызывающие у растений химические или физические изменения, оказывающие негативное влияние на их рост и развитие, а также приводящее к снижению продуктивности и качества урожая сельскохозяйственных культур [1].

Серьезной проблемой традиционного направления селекции остается длительный период выведения сорта, который, как правило, составляет не менее 10 лет. Для ускорения селекционных методов применяют культивирование клеток и тканей растений *in vitro* на искусственных питательных средах с добавлением селективных агентов, имитирующих/моделирующих воздействие природных стрессов, что позволяет проводить целенаправленный отбор устойчивых каллусных культур и растений-регенерантов.

В настоящее время разработаны методы индукции и культивирования каллуса, а также условия регенерации растений практически для всех ценных в хозяйственном отношении растений, в т.ч. и зерновых культур. Присутствие в почве в большом количестве ионов металлов, токсически влияющих на растения, или недостаток ионов, используемых растениями в качестве питательных веществ, могут быть причиной ионного (минерального) стресса у растений [2].

Попадание тяжелых металлов (ТМ) в агрофитоценозы порождает две основные проблемы: 1) снижение продуктивности сельскохозяйственных растений; 2) загрязнение продуктивных органов ТМ и попадание тех с пищей в организм животных и человека. В настоящее время остается до конца нерешенным вопрос о существовании связи между устойчивостью организмов и накоплением в них ТМ.

В некоторых случаях отмечено отсутствие зависимости между содержанием металла в растениях и его содержанием в почве [3].

Среди ТМ высокой токсичностью для растений и животных, даже при низкой концентрации, выделяется кадмий (Cd), относимый санитарно-гигиеническими нормами к I классу опасности.

Открытие механизмов металлоустойчивости и наличие естественного полиморфизма по данному признаку позволяет надеяться на успех экспериментального конструирования толерантных генотипов [4].

Селекция на устойчивость к ТМ может осуществляться не только на уровне взрослого растения, но в культуре *in vitro*. В настоящее время известны работы по получению растений злаковых и бобовых культур, устойчивых к ионам меди, свинца, цинка, никеля [5].

Выявлена корреляция между устойчивостью к ионной токсичности ТМ *in vivo* и *in vitro* у томатов, люцерны, кукурузы, сахарного тростника, пшеницы [6,7]. Проведено несколько успешных работ по отбору клеток, устойчивых к ионам кадмия, в культурах дурмана, табака, томата. Концентрация ионов Cd<sup>2+</sup> (в составе хлоридов и сульфатов) в среде колебалась от 1,5 мМ до 100 мМ. В этом случае, у каллусных культур наблюдали существенное отставание в росте и падение регенерационной способности. В большинстве случаев, на селективных средах с кадмием не удавалось регенерировать растения. Исключение составили работы по созданию регенерантов льна, полевицы побегоносной, пшеницы [8,9].



Известны факты, когда одновременно с устойчивостью к токсичности кадмия клетки приобретали устойчивость к ионам свинца [10].

Для создания устойчивых форм к ионам ТМ, целесообразно использовать прямую клеточную селекцию (позитивную), при которой выживает только определенный искомый мутантный тип клеток; или применять ступенчатые схемы селекции (где на первых этапах вносят адаптивные концентрации стрессового фактора и лишь после обогащения популяции резистентными клетками условия селекции ужесточаются).

Последний метод целесообразно использовать для получения устойчивых форм к таким высокотоксичным ионам, как кадмий. Существуют трудности в разработке селективных сред, в составе которых присутствуют металлы.

Ионы металлов взаимодействуют с другими ионами с образованием нерастворимых осадков. В агаровой среде фитотоксичность действия металлов может быть снижена. Также имеются трудности при проведении клеточной селекции на средах с несколькими стрессовыми факторами: кумулятивный токсический эффект на селективной среде при наличии двух и более металлов в неблагоприятных для растения дозах может как усиливаться (аддитивный синергизм), так и ослабляться (антагонизм) [11]. Нуждаются в уточнении токсичные для растений концентрации ионов ТМ в составе солей с различными анионами.

Широкому применению клеточной селекции ячменя препятствует низкая частота регенерации растений, уровень которой в каллусных культурах дополнительно снижается в результате длительного культивирования и /или культивирования в стрессовых условиях на селективных средах.

Морфогенетическая способность клеток в этих условиях обнаруживает тенденцию к затуханию, что снижает результативность отбора желаемых генотипов независимо от свойства исходного сорта. В то же время морфогенез, зачастую, приобретает направленность ризогенеза, после которого не удастся восстановить эмбриогенные потенции культивируемых клеток и получить растения-регенеранты.

Поэтому, при разработке селективных систем *in vitro* необходимо выявить условия, способствующие повышению морфогенетической активности отбираемой каллусной ткани в направлении образования морфогенного каллуса.

Для управления процессами морфогенеза и регенерации ячменя в культуре ткани используют индукторы физической, химической и биотической природы. Известно о повышении морфогенетической активности в каллусной ткани кукурузы путем стимуляции клеток электрическим током [12].

Выявлено благоприятное воздействие на каллусную ткань двудольных и однодольных растений низких доз гамма-излучения. В частности, облучение повышало эффективность регенерации из каллуса ячменя, полученного в культуре пыльников [13].

На регенерацию зерновых злаков *in vitro* положительное воздействие оказывало подсушивание каллусной ткани. Предполагают, что дегидратация вызывает индукцию генов, кодирующих синтез абсцизовой кислоты [14].

Для интенсификации морфогенеза в каллусных культурах наряду с индукторами физического происхождения применяют химические регуляторы роста. Ключевыми регуляторными функциями обладают фитогормоны, прежде всего оптимальное соотношение ауксинов и цитокининов. Определённую роль играют и другие регуляторы роста, в частности, гибберелловая кислота (ГК), абсцизовая кислота, этилен, которые используют экзогенно для повышения регенерации в культуре *in vitro* [15]. Кроме того, повышению регенерации ячменя в каллусной культуре способствуют различные модификации микро- и макроэлементного состава среды, в частности корректировка уровней меди, железа, бора, органического азота [16].

Стимулирующее действие на регенерацию ячменя оказывают многие органические вещества: мальтоза, миоинозитол, гидролизат казеина, аминокислоты (глутамин, аспарагин,

тиамин), кокосовая вода – жидкий эндосперм *Cocos nucifera* [17]. Стимуляцию морфогенеза в культуре ткани растений способны также вызывать некоторые микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности [18]. Индукции морфогенеза растительной ткани способствуют метилобактерии, синтезирующие цитокинины и/или ауксины [19].

В исследованиях изучение реакции каллусной ткани ячменя на присутствие в селективных средах кадмия предварительно определяли в культуре проростков ячменя в концентрации для кадмия 0 – 30 мг/л.

Каллус ячменя индуцировали на средах MS 1 (для индукции каллуса) с ионами Cd<sup>2+</sup> (5 мг/л) и на среде без токсиканта (контроль). В возрасте трех недель каллусные культуры переносили на среду MS2 (для пролиферации) с кадмием в различных концентрациях (0-30 мг/л). Средний уровень индукции морфогенного каллуса на среде (MS 1) с кадмием не превышал 12-15 %.

На среде MS 2 с Cd<sup>2+</sup> выше 20 мг/л выживаемость каллусной ткани, индуцированной в селективных условиях (двукратный отбор), была в два раза выше по сравнению с культурами, полученными на среде без кадмия (однократный отбор).

Способность к морфогенезу, независимо от варианта, нелинейно зависела от концентрации этого металла в среде, но, в основном, была выше для культур, индуцированных на контрольной среде, достигая максимума (80%) при высокой селективной нагрузке и снижалась до 33-66% в условиях более мягкого отбора. Морфогенетический потенциал каллуса, индуцированного, в присутствии кадмия, не превышал 3,7% на среде MS 2 с концентрацией ионов Cd<sup>2+</sup> 15 мг/л и выше, т.е. был недостаточен для проведения отбора *in vitro*.

Для разработки эффективных схем клеточной селекции выявляли оптимальную кратность введения токсичных ионов в селективные среды. Реакцию на стресс оценивали, учитывая выживаемость и способность к регенерации на этапе пролиферации и морфогенеза каллусной ткани различных генотипов ячменя. Ранее было отмечено повышение уровня выживаемости на среде с ионами Cd<sup>2+</sup> при двукратном отборе на этапах индукции-пролиферации каллуса по сравнению однократным отбором на этапе пролиферации. Исходя из этого, можно предположить эффективность применения для получения форм, устойчивых к высокотоксичным ионам Cd<sup>2+</sup> ступенчатую схему селекции – на этапе пролиферации (MS2) вносить адаптивные концентрации (10-15 мг/л) токсиканта, а после обогащения популяции резистентными клетками, ужесточить условия селекции, используя более высокие его концентрации (20-25 мг/л) на этапе морфогенеза (MS3). Последующие исследования выявили эффективность использования ступенчатых схем селекции, где наибольшее количество каллусов (60,3%) выживало и проявляло способность к регенерации (18,1 % достоверное различие) при двукратном отборе с ионами Cd<sup>2+</sup>: 10 мг/л - пролиферация и 15 мг/л – морфогенез.

Применение схем с однократным отбором или ступенчатым понижением селективной нагрузки оказалось неэффективным, т.к. в этих условиях не удалось получить жизнеспособные растения-регенеранты в каллусной культуре.

Использование селективного фактора наиболее эффективно на этапе пролиферации каллусной ткани. Диапазоны концентраций Cd<sup>2+</sup>, при которых обеспечена выживаемость, близкая к уровню LD50, и регенерационная способность не ниже 10 % соответствуют 15-20 мг/л.

Для отбора каллусных линий ячменя, устойчивых к высокотоксичным ионам кадмия целесообразно использовать ступенчатую схему селекции с повышающим градиентом концентрации на этапах пролиферации (10 мг/л) и морфогенеза (15 мг/л).

*Литература*

- 1 В.И. Ипатова Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды. – М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
- 2 Л.Е. Сергеева, Л.И. Бронникова. Клеточная селекция с ионами тяжелых металлов: новые аспекты комплексной устойчивости // Биология клеток растений invitro и биотехнология: тез. докл. Хмеждународ. конф. -Казань: КИББ КазНЦ, 2013.-С. 82-83.
- 3 Д.Н. Горбань. Свинец в системе почва – растение в ландшафте Шерловогорского горнорудного района на примере *Polygonum angustifolium pallas* (Poiygonaceae) // Успехи современного естествознания. - 2016. - №12 (2). - С. 375-379.
- 4 Л.П. Хлебова, И.А. Шлецер Создание клеточных линий пшеницы, устойчивых к воздействию ионов никеля// Известия Алтайского государственного университета. — 2007. — №3(55). – С. 31-33.
- 5 К.Р. Утеулин. Способ получения клеточных линий люцерны, устойчивых к ионам меди: патент на изобретение № 19348 (предварительный) МПК А01Н4/00 база патентов Казахстана /Зарегистрировано 28.02.2008, опубликовано 15.09. 2008.
- 6 Ю.И. Долгих, А.Ю. Степанова, Е.А. Гладков, Е.С. Осипова. Получение растений, толерантных к неблагоприятным условиям окружающей среды, методом клеточной селекции// Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии: матер. междун. науч. конф. 19 октября 2004 года. М.: ВНИИСХБ, 2004. С.136-138.
- 7 Е.Д. Никитина, Л.П. Хлебова, Г.Г., Соколова. Создание источников устойчивости яровой пшеницы к воздействию никеля методами клеточной селекции *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. – 2013б. – Т.1. – №.3 (79) – С. 88-90.
- 8 Е.А Гончарук., Т.Н. Николаева, Л.В. Назаренко, Е.А. Калашникова, Н.В. Загоскина. Ответная реакция культивируемых *in vitro* клеток *Linum grandiflorum* Desf. на действие кадмия и глифосата // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т.53. - №5. – С. 938-946.
- 9 Е.А. Гладков, Ю.И., Долгих, О.В. Гладкова. Использование клеточной селекции для получения толерантных к тяжелым металлам газонных трав // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т.15. – №.3-4. - С. 1258-1261.
- 10 Е.А. Гладков, Биотехнологические методы получения растений, устойчивых к тяжелым металлам. Получение растений, толерантных к ионам кадмия и свинца // Биотехнология. - 2006. - №4. - С. 8793.
- 11 Л.Е. Сергеева, Л.И. Бронникова. Клеточная селекция с ионами тяжёлых металлов для отбора осмоустойчивых форм растений // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты): VII междун. науч.-практ. конф. Ялта, Крым, 2016. – С. 332-333.
- 12 Г.Б. Китлаев, С. Диас, Т.Ю. Вера-Рамос, Ю.И. Долгих, Р.Г. Бутенко Стимуляция слабым электрическим током регенерации растений в культуре тканей кукурузы // Биотехнология. - 2001. - №5. - С. 5863.
- 13 M.I.E. Arabi, B. AlSafadi, M. Jawar, M. Mir-Ali. Enhancement of embryogenesis and plant regeneration from barley anther culture by low doses of gamma irradiation / // In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. - 2005. - V.41. - P. 762-764.
- 14 M. Grossi, M. Gulli, A.M. Stanca, L. Cattivelli. Characterization of two barley genes that respond rapidly to dehydration stress // Plant Sci. - 1995. - V. 105. - P. 71-80.
- 15 A.K. Jha, S.L. Dahleen, J.C. Suttle. Ethylene influences green plant regeneration from barley callus // Plant Cell Rep. - 2007. - V.26. - P. 285-290.
- 16 L.S. Dahleen, P. Bregitzer. An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo-derived callus cultures of commercial cultivars // Crop. Sci. - 2002. - V. 42. - P. 934-938.

17 В.Н. Овчинникова, Н.В. Варламова, О.С. Мелик-Саркисов, П.Н. Харченко, А.Н. Майсурян, В.В. Щербачев, Ю.Ц. Мартиросян. Индукция каллусообразования и регенерации растений ячменя *Hordeum vulgare* L. в культуре зародышей // Сельскохозяйственная биология. – 2006. - №1. - С. 74-79.

18 И.Ф. Шаяхметов. Роль лектина пшеницы и абсцизовой кислоты в регенерации растений // Успехи современной биологии. – 2004. - Т.124. - №6. - С. 602-611.

19 Н.В. Доронина, Д.Н. Федоров, М.В. Шихсаидов, О.Н. Пономарева. Стимуляция роста и морфогенеза растений *in vitro* ассоциативными аэробными метилотрофными бактериями *Methylobacterium extorquens* D10, образующими цитокинины, ауксины и витамин B12 // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. – 2010. – №1. - С. 215–225.

УДК. 504.064.36

## ДНК-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БИОМОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Чекунова Е.М.<sup>1</sup>, Д.В. Пинахина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [elena\\_chekunova@mail.ru](mailto:elena_chekunova@mail.ru)

**Аннотация.** Статья посвящена активно развивающемуся подходу в исследовании биоразнообразия - анализу ДНК окружающей среды (environmental DNA, eDNA). Обсуждаются современные представления о природе eDNA, охарактеризованы основные методы анализа eDNA. Описаны основные направления современных исследований, использующих методы eDNA, и перспективы их применения для изучения биоразнообразия.

**Ключевые слова:** ДНК окружающей среды, метагеномика, биоразнообразие, биологический мониторинг, природоохранная биология.

Одним из современных и перспективных подходов к изучению биоразнообразия является исследование ДНК окружающей среды, или environmental DNA (далее - eDNA). Все живые организмы оставляют в среде обитания продукты своей жизнедеятельности, содержащие следы ДНК [1].

eDNA - это генетический материал (ядерный, митохондриальный, хлоропластный), выделяемый из проб разнообразных природных субстратов (почвы, осадки, морские и пресные воды) в отсутствие в пробе самого источника данного материала. К наиболее распространенным путям поступления eDNA в окружающую среду относят естественную десквамацию кожного эпителия, травматизацию тканей, выделение продуктов обмена и репродуктивных клеток, а также разложение умерших организмов [2]. После этого eDNA может транспортироваться и сохраняться в различных субстратах от нескольких недель в водоемах умеренного пояса до сотен тысяч лет в вечной мерзлоте. Интенсивность eDNA сигнала зависит как от темпов выделения организмами генетического материала в среду, так и от устойчивости eDNA в этой среде, то есть продолжительности существования фрагментов ДНК после удаления их источника из системы [3]. Такой показатель связан с плотностью популяции вида, размерами его особей, соотношением между выделяемой в среду и деградируемой ДНК для данного вида и зависит от абиотических факторов, влияющих как на деградацию, так и на транспортировку генетического материала.

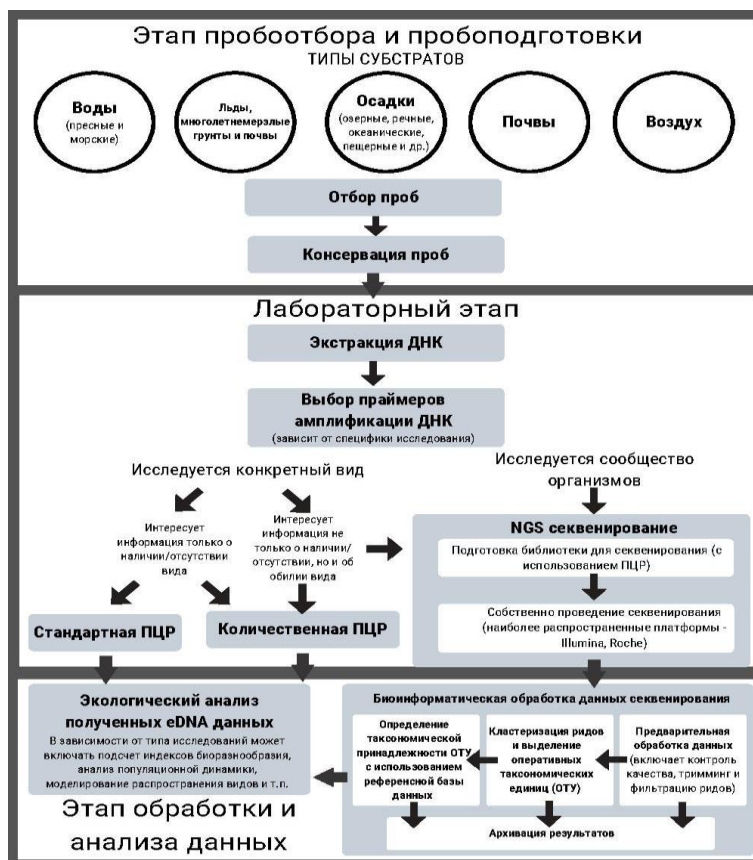


Рисунок 1. Последовательность процедур, используемых в исследованиях eDNA

Исследовательский подход с использованием eDNA можно рассматривать как новую ветвь метагеномики, которая начиная с 1980-х годов, изучает разнообразие естественных микробных сообществ. Уже на рубеже XX-XXI вв. было показано, что метагеномные методы могут быть эффективны в оценке разнообразия многоклеточных организмов. Впервые результаты анализа eDNA многоклеточных организмов в пробах воды были опубликованы в 2005 году [4]. Исследования проводились для определения источника фекального загрязнения поверхностных вод (стояла задача определить ДНК людей, коров, свиней и овец). Перспективность eDNA подхода в мониторинге биоразнообразия впервые была показана в работе, посвященной детекции инвазивного вида американской бычьей лягушки *Rana catesbeiana* Shaw 1802, в болотах Франции [5]. Она продемонстрировала крайне высокую чувствительность методов eDNA.

Последовательность процедур, используемых в исследованиях eDNA [6], показана на рисунке 1. Выделяют два основных направления исследований с использованием методологии eDNA. Первый направлен на изучение одного конкретного вида организмов (single-taxon approach). В этом случае используют протоколы eDNA-анализа, которые предусматривают проведение ПЦР в реальном времени с видоспецифичными праймерами. Этот метод позволяет эффективно проводить детекцию определенных видов (особенно гидробионтов) в различных местах обитания. В настоящее время в практику экологического мониторинга вводятся протоколы eDNA для анализа множества редких видов. Так, в 2014 году Nature England (негосударственная организация, спонсируемая министерством окружающей среды и продовольствия Великобритании) одобрила протокол eDNA анализа для обнаружения гребчатого тритона *Triturus cristatus*, занесенного в международную Красную Книгу. Испытание этого протокола, показало его существенно более высокую эффективность по сравнению с традиционными методами (в том числе визуальным поиском в дневное время, поиском икры, использованием бутылочных ловушек и т.п.): временные

затраты сократились более чем в 10 раз, при этом финансовые расходы на проведение исследования оказались в 6-10 раз ниже. Присутствие гребенчатых тритонов в ходе данного пилотного проекта было выявлено в 99.3% случаев [7].

Второй тип исследований eDNA нацелен на определение таксономической принадлежности всех последовательностей ДНК в пробе (multiple-taxon approach) с использованием праймеров, общих для крупных групп организмов, и последующего секвенирования полученных ампликонов. В таких случаях часто используют метод мета-штрихкодирования (metabarcoding), который основан на том, что короткие стандартизированные участки ДНК могут быть амплифицированы и использованы как штрих-коды для идентификации таксонов. Данный метод используют для реконструкции целых экологических сетей, проверки экологических гипотез, для установления новых индикаторных таксонов и в других исследованиях. Стандартными в баркодировании диагностическими регионами являются: для животных — митохондриальный ген субъединицы 1 цитохромоксидазы (COI), для растений — пластидные гены рибулозобисфосфаткарбоксилазы (rbcL) и матуразы K (matK), для грибов – внутренние транскрибируемые спейсеры ядерных генов рибосомальных РНК (ITS) [8].

В настоящее время методы eDNA активно применяют в областях, связанных с экологией и охраной природы: в палеогенетических исследованиях, для изучения древних сообществ; в биомониторинге, для детекции инвазивных и редких видов и выявления «скрытого биоразнообразия»; при контроле загрязнений окружающей среды и установлении новых экологических индикаторов ее состояния; для отслеживания распространения инфекционных заболеваний [6].

Одним из достоинств методов eDNA для мониторинга биоразнообразия является возможность вовлечения в исследования любителей-волонтеров и приобщения таким образом широкого круга людей к экологическим проблемам. В ходе упомянутого выше тестового мониторинга гребенчатого тритона именно волонтерами были отобраны пробы из 239 прудов в Англии, Уэльсе, Шотландии. Широкомасштабная программа мониторинга биоразнообразия с помощью eDNA, в основу которой легла волонтерская работа, была учреждена Университетом Калифорнии в 2017 году. В ходе этой программы волонтеры отбирают пробы почвы и осадков, исследователи анализируют eDNA и делятся полученными результатами на специально разработанном сайте, который благодаря дружественному интерфейсу удобен как для исследователей, так и для широкой публики, содержит образовательные и аналитические модули (CALeDNA. CALeDNA n.d., <http://ucedna.com>). В рамках этих работ уже исследовано более 1679 локаций.

Таким образом, очевидные преимущества метода eDNA состоят в повышении чувствительности обнаружения и эффективности оценок видового состава гидробионтов в полевых условиях в труднодоступных водоемах. Метод активно развивается в трех направлениях: обнаружение находящихся под угрозой исчезновения видов, отслеживание инвазивных видов и оптимизация мониторинга в полевых и лабораторных условиях. Он позволяет оперативно получать полную информацию о биоте водоема, не нарушая его естественного состояния, что делает eDNA подход еще более привлекательным для реализации задач биомониторинга.

### *Литература*

- 1 Cristescu M.E., Hebert P.D.N. Uses and Misuses of Environmental DNA in Biodiversity Science and Conservation // Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. - 2018. – V 49. – P: 209-230.
- 2 Thomsen P.F., Willerslev E. Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity // Biological Conservation. – 2015. – V. 183. – P. 4-18.

3 Dejean T, Valentini A, Duparc A, et al. Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems // PLOS ONE. – 2011. – V. 6:e23398.

4 Martellini A., Payment P., Villemur R. Use of eukaryotic mitochondrial DNA to differentiate human, bovine, porcine and ovine sources in fecally contaminated surface water // Water Res. – 2005. – V. 39. – P. 541-548.

5 Díaz-Ferguson E.E., Moyer G.R. History, applications, methodological issues and perspectives for the use environmental DNA (eDNA) in marine and freshwater environments // Rev. Biol. Trop. – 2014. – V. 62. – P. 1273-1284.

6 Пинахина Д.В., Е.М. Чекунова. ДНК окружающей среды: история изучения, современные и перспективные направления в фундаментальных и прикладных исследованиях // Экологическая генетика. – 2020. – т. 18. – N4 – С. 493-509.

7 Biggs J, Ewald N, Valentini A, et al. Analytical and methodological development for improved surveillance of the Great Crested Newt // Defra Project WC1067. Oxford: Freshwater Habitats Trust. – 2014.

8 Ruppert K, Kline R, Rahman M. Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global Edna // Global Ecology and Conservation. – 2014. – V.17:e00547.

УДК 571.27

## БИОТЕСТ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАДОНООПАСНОЙ ТЕРРИТОРИИ

А.М. Шайзадинова, А.Б. Акбота, Б. Исханова, З.М. Бияшева

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан*

*e-mail: [shaizadinova@bk.ru](mailto:shaizadinova@bk.ru)*

**Аннотация.** В настоящее время каждый человек, а особенно житель мегаполиса, ежедневно сталкивается с такой проблемой как загрязнение окружающей среды, негативно влияющее на здоровье и провоцирующее появление мутаций с генотоксическим эффектом. Одним из таких факторов загрязнения является ионизирующее излучение, основным источником которого выступает радон и дочерние продукты его распада. Для определения генотоксического действия радона и его продуктов распада (ДПР) использовалась тест-система *Drosophila melanogaster* содержащая сцепленные X-хромосомы и X-Y-хромосомы. С помощью  $\alpha$ -излучения моделировали влияние радона и его ДПР. Гемотоксичность проявилась через появление условных мутаций, которые “по природе” своей относятся к мутациям с эффектом положения гена - это морфозы крыльев, глаз, брюшка, грудной клетки, антенн и меланомы на всех частях тела. Было установлено, что тест-система содержащая сцепленные X-хромосомы менее чувствительна к генотоксическому влиянию радиации, чем тест-система содержащая сцепленные X-Y-хромосомы. Более того, под влиянием альфа- излучения в тестовой системе X-Y-сцепленной хромосомы был обнаружен гинандроморф, сочетающий в себе черты мужского и женского тела, а спонтанная частота такого явления около одногослучая на 90 тысяч имаго. Непараметрический тест  $\chi^2$  показал, что частотные распределения в эксперименте и контроле статистически различаются на уровне вероятности 99%. Эти результаты указывают на мутагенную и канцерогенную активность радона и его ДПР, а также достаточную чувствительность использованной тест-системы для генетического мониторинга.

**Ключевые слова:** радон, альфа-излучение, гинандроморф, мутации, дрозофила

## Введение

Алматы – город с самым высоким естественным радиационным фоном в Казахстане, причиной этому является его высокогорное расположение в 9-ти балльной сейсмической зоне. Территорию города пересекают 5 тектонических разломов, через которые на поверхность земли выходит радон, а продукты его распада являются источниками  $\alpha$ -излучения. Проблема охраны окружающей среды занимает одно из центральных мест в фундаментальных, а также прикладных аспектах мониторинга объектов окружающей среды, которые включают в себя такие методы как биомониторинг, биотестирование и биоиндикация. За последние несколько лет значительно вырос интерес к биомедицинским и экогенетическим проблемам, включающие в себя негативное воздействие радона и его дочерних продуктов распада. Исходя из оценок Научного Комитета по действию атомной радиации (НКДАР), более 75% годовой индивидуальной дозы облучения население получает от радона и его изотопов [1]. Таким образом, радиоактивное загрязнение занимает особое место в процессах загрязнения атмосферного воздуха, воды, почвы и окружающей природной среды. Радиоактивное загрязнение характеризуется наличием радиоактивных веществ на поверхности, в воздухе, в организме человека или где-либо еще в количествах, которые превышают установленные уровни и могут вызывать как мутагенные так и канцерогенные эффекты [2]. Одним из радиоактивных веществ, создающих радиоактивное загрязнение, является радон и его дочерние продукты распада. Радон является радиоактивным газом и продукты его распада создают значительную опасность для здоровья человека путем попадания в организм человека, а при разложении внутри организма выделяет  $\alpha$ -частицы [3]. Средний уровень радиационного фона, вызванного радоном в атмосферном воздухе, колеблется в диапазоне 5–15 Бк/м<sup>3</sup>. Однако в закрытых помещениях концентрация радона выше. В зданиях, например, жилых домах, школах и офисных помещениях, уровень радиоактивности, связанной с радоном, может составлять от 10 Бк/м<sup>3</sup> до более 10 000 Бк/м<sup>3</sup>. Исходя из этого, на местах загрязнения радоном и его дочерними продуктами распада проводят радиационный контроль, при котором измеряют дозы альфа-излучения. Измеренный уровень можно использовать в мониторинге, а также моделировать в опыте с использованием биотестов [4]. В связи с этим для определения возможного генетического воздействия физических или химических агентов, включая радон и его продукты распада, используются не индивидуальные тесты, а специальные наборы тестов, отвечающих требованиям чувствительности и специфичности [5].

## Материалы и методы

Данный эксперимент проводился посредством метода, содержащего в себе систему сцепленных половых хромосом. Суть данного метода заключается в том, что сцепленные X-хромосомы всегда передаются вместе, так как они связаны между собой. А также данный метод позволяет учитывать видимые вновь возникающие мутации в X-хромосоме [6], а дополнительные Y-хромосомы в генотипе являются сильнейшими модификаторами позиционного эффекта. Кроме того, этот метод способен фиксировать мозаичные пятна в фенотипе с целью выявления канцерогенных факторов окружающей среды, а именно радона и его дочерних продуктов распада.

В данном опыте в качестве материала исследования для изучения генотоксического влияния  $\alpha$ -излучения были выбраны следующие изотопы: Pu238 с радионуклидной активностью источника 4.01\*10<sup>4</sup> Бк, Pu239 с радионуклидной активностью источника 3.80\*10<sup>3</sup> Бк, Триплет (Pu238 + Pu239 + U233) с радионуклидной активностью источника 3.86\*10<sup>4</sup> Бк.

Для проверки генетического воздействия факторов окружающей среды в виде изотопов радона, мы использовали три генетические линии *Drosophila melanogaster* (1-112, ЭП-2, Орегон), которые содержат систему сцепленных половых хромосом. Тестовая линия плодовой мушки ЭП-2 содержит в себе так называемый позиционный эффект, который характеризуется



изменением активности генов в зависимости от их положения в геноме. В свою очередь, *Drosophila melanogaster* тестовой линии 1-112 несет небольшую, цитологически невидимую, рентгеновски индуцированную делецию [7]. Линия Орегон является мухой дикого типа. Если обработанные мутагеном самцы скрещиваются с самками, то все мутации, возникшие в гаметах в X-хромосоме самцов, передаются потомкам самцов, и поэтому все рецессивные мутации будут проявляться в первом поколении гемизиготных самцов [8].

### Результаты

Для оценки мутагенной активности радона и его дочерних продуктов распада в дрозофиле был использован метод содержащий сцепленные X-хромосомы. Культивирование, селекция и скрещивание мух проводились при температуре 23-25 °С, что является оптимальной температурой для содержания плодовых мушек *Drosophila melanogaster*. Самок дрозофилы линий 1-112 и ЭП-2 отбирались каждые 6-8 часов, так как за это время вылупившиеся имаго не достигают половой зрелости и не способны к оплодотворению. Самцов линии Орегон подвергали облучению альфа-источниками радона и его дочерних продуктов распада в течении 24 часов. После чего облученных самцов скрещивали с заранее отобранными девственными самками. В каждую пробирку помещали 1 облученного самца и двух девственных самок. Спустя 3 дня родительское поколение удалялось из пробирок, а из отложенных яиц начало развиваться новое поколение. Анализ проводили после полного вылета имаго *Drosophila melanogaster* (10-15 дней).

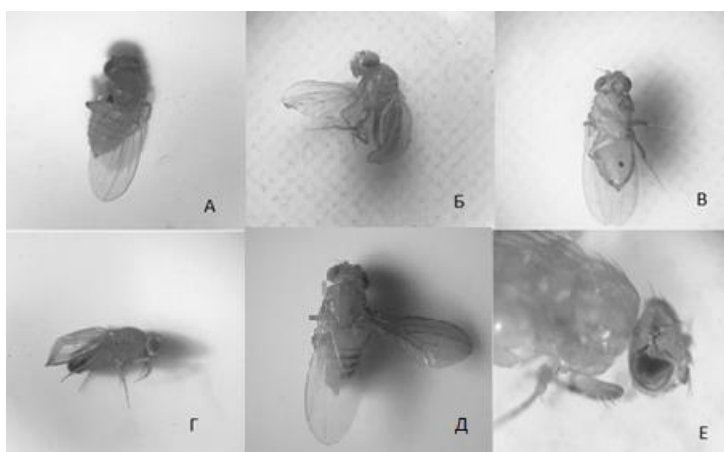


Рисунок 1 – Обнаруженные морфозы у *Drosophila melanogaster* в первом поколении, индуцированные под воздействием альфа-излучения от различных источников: А) отсутствие одного крыла (Pu238, тест-система ЭП-2), Б) морфозы крыльев – скрученные крылья (Pu239, тест-система ЭП-2), В) черное пятнышко на брюшке - меланома (триплет, тест-система ЭП-2); Г) мозаицизм на глазу (Pu238, тест-система 1-112); Д) гинадроморф (триплет, тест-система ЭП-2); Е) деформация глазо-антенного аппарата (триплет, тест-система 1-112).

Также в ходе эксперимента была обнаружена особь гинандроморфа. Данный случай является феноменом. В популяции дрозофилы иногда встречаются особи, у которых одни части тела обладают признаками мужского организма, другие – женского [9]. Такие особи называются гинандроморфами. Частота появления гинандроморфов составляет примерно один случай на 90 000 [10]. Обнаружен гинадроморф в линии ЭП-2 под влиянием альфа-излучения триплета. Это доказывает то, что доза облучения триплета имеет наибольшую мутагенную и канцерогенную активность. Визуальный анализ сопровождался подсчетом числа мух с мутациями и морфозой и без них. Рассчитанные и обобщенные результаты приведены ниже (табл. 1).

Таблица 1. Результаты статистического анализа в тест-системе сцепленных X-хромосом и сцепленных X-Y-хромосом

$\alpha$ -источники тест-системы	Плутоний 238 Pu238	Плутоний 239 Pu239	Триплет U233+Pu239+ Pu239
Сцепленные X-Y-хромосомы (ЭП-2)	19,4	49,2	38,8
Сцепленные X хромосомы (1-112)	2,6	0,38	3,9
Критические значения $\chi^2$ при разных уровнях вероятности	3,841 при df=1 и уровне значимости $\alpha \leq 0,05$	6,635 при df=1 и уровне значимости $\alpha \leq 0,01$	10,828 при df = 1 и уровне значимости $\alpha \leq 0,001$

Статистическая обработка экспериментальных данных показала в тест-системе сцепленных хромосом (ЭП-2) показала, что  $2_{exp} > 2_{crit}$  at  $P \leq 0.05$ . Также статистический анализ показал, что  $2_{exp} < 2_{crit}$  at  $P \leq 0.05$  в тест-системе сцепленных хромосом в линии 1-112 с использованием альфа-источников Pu238, Pu239 and триплет (U233+Pu239+Pu238). Было обнаружено, что тест-система 1-112 менее чувствительна к генотоксическому влиянию радиации, чем тест-система ЭП-2, поскольку в потомстве преобладают генотипы без хромосомных aberrаций.

#### **Заключение**

Для определения генотоксического эффекта радона и его дочерних продуктов распада использована тест-система со сцепленными X-хромосомами и сцепленными X-Y-хромосомами. Таким образом, было проведено сравнение двух тест-систем со связанными X-хромосомами ЭП-2 и 1-112. Основная идея этого сравнения заключается в проведении анализа радиационной чувствительности. Используемый нами непараметрический критерий  $\chi^2$  продемонстрировал, что распределения частот в эксперименте и контроле статистически отличаются при 99% уровне вероятности. Выявлены морфологические проявления  $\alpha$ -излучения: это морфозы крыльев, глаз, брюшной полости, грудной клетки, антенн, меланомы на всех участках тела. Эти морфологические проявления указывают на мутагенную и канцерогенную активность радона и дочерних продуктов его распада.

#### *Литература*

- 1 Онищенко Г.Г. О состоянии контроля за радиационной безопасностью населения от природных источников ионизирующего излучения // Здоровье населения и среда обитания. – 2008. – № 4. – С. 9–11.
- 2 James R. DeVoe. Radioactive Contamination of Materials Used in Scientific Research. Washington D.C.: National Academies, 1961. – P. 13-27
- 3 Ashby J. International Commission for protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. Two million rodent carcinogens. The role of SAR and QSAR in their detection. // Mutation Research. – 1994, Feb 1.- 305 (1). – P. 3-12
- 4 Marquita K. Hill. Understanding Environmental Pollution. – London: Cambridge University Press, 2010. – P. 27-35
- 5 David J. Brenner. Radon: Risk and Remedy. – New York: W.H. Freeman and Co, 1989. – P. 9-10
- 6 Жимулев И.Ф. Гетерохроматин и эффект положения гена. – Новосибирск: Наука, 1993. – 490 с.
- 7 Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. – С. 2-11.

8 Чадов Б.Ф., Чадова Е. В., Копыл С. А., Артемова Е. В., Хоцкина Е. А., Федорова Н. Б. От генетики внутривидовых отличий к генетике внутривидового сходства // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 9. – С. 1157–1172.

9 Adams, James K. "[Gynandromorphs](#)". Department of Natural Sciences, Dalton State College. Archived from [the original](#) on 2013-03-07. Retrieved 2005-06-29.

10 Werner, Eric (2012). "A Developmental Network Theory of Gynandromorphs, Sexual Dimorphism and Species Formation". *arXiv:1212.5439 [q-bio.MN]*.

ӘОЖ 637.12.04/.07

## ТҮЙЕ СҮТІНІҢ СҮТ ҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ АСҚАЗАН-ІШЕК ЖОЛДАРЫНЫҢ ШАРТТАРЫНА ТӨЗІМДІЛІГІ

А. С. Шамшиманова<sup>1</sup>, А. К. Кудайбергенова<sup>1</sup>, А. С. Нургазина<sup>2</sup>,  
Н. Ж. Бегділдаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ-сы, Қазақстан,

<sup>2</sup>«Антиген» ҒӨК, Қазақстан, Алматы облысы

e-mail: [aijan-7@mail.ru](mailto:aijan-7@mail.ru)

**Аннотация:** Түйенің шикі сүті және оның негізінде ашытылған өнімдері жоғарғы пробиотикалық потенциалға ие сүт қышқылды бактерияларға бай болып келеді. Түйе сүтінің құрамында жиі кездесесетін микроорганизмдер: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Pediococcus*. Аталған зерттеу жұмысымызға алдын-ала жергілікті түйе сүтінен бөлініп алынған және идентификацияланған *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* сүт қышқылды бактерияларының штамм изоляттары қолданылды. Оларды өз кезегінде зертханада жасанды (in vitro) қоректік ортада асқазан-ішек жолдарының шарттарына төзімділігі бойынша зерттедік, атап айтқанда асқазан сөлінің құрамындағы пепсин ферментіне және төменгі қышқылдылыққа, өт қышқылы тұздарына, фенолға тұрақтылық қасиет көрсетуі және тіршілік қабілетін сақтай білуі. Нәтижесінде, зерттеу нысандары жоғарғы пробиотикалық әлеует көрсетті, олардың тіршілікке қабілетті колониялары сан жағынан және сапа жағынан да көп болды. Осылайша жергілікті сүт қышқылды бактериялар негізінде пробиотикалық препараттар құрып, оларды ауыл шаруашылығында қолдану жоғарғы өнімді, экологиялық таза, сапасы жоғары, экономикалық жағынан тиімді өнімдер алуға мүмкіндік береді.

**Кілттік сөздер:** түйе сүті, сүт қышқылды бактериялар, пробиотикалық қасиеттер, асқазан-ішек жолдарының шарттары, ауыл шаруашылығы

### Кіріспе

Ашытылған сүт өнімдерінің тағамдық құндылығы жоғары және олар адам ағзасына оңай сіңеді. Ғалымдар мұны шикі сүттің құрамдас бөліктері ферменттер, сүт қышқылы микрофлорасы арқылы метаболизденіп, органикалық қосылыстарға гидролизденетіндігімен түсіндіреді. Сүт қышқылды бактериялар (СҚБ) биотехнологиялық салада кең таралған, пробиотикалық қасиеттері мен ерекшеліктері өте жақсы зерттеліп, әлемдік деңгейде жоғарғы көрсеткішпен пробиотикалық препараттардың өндірісінде қолданылуда, ал пробиотиктердің ауыл шаруашылығында, атап айтқанда құс және мал, балық өндірісінде маңызы зор [3, 4, 12].

Бүгінгі таңда ақпараттың көп бөлігі сиыр сүтін зерттеуге шоғырланған, ал жануарлардың басқа түрлерінің (қой, ешкі, бұғы, бие және түйе) сүті туралы зерттеулер әлемдік қауымдастықта аз қамтылған. Осы тұрғыдан түйе сүтін одан әрі зерттеу өзекті болып табылады.

Түйе сүті өте құнарлы, қоректік қасиеті жақсы және тұтынуға мүлдем қауіпсіз. Түйенің шикі сүті және оның негізінде алынған ферментативті өнімдері сүт қышқылды бактерияларға бай болып келеді.

Пробиотиктер қазіргі мағынада тірі микробтық дақылдардан алынған бактериялық препараттар болып табылады, олар асқазан-ішек жолдарының микрофлорасын түзетуге және адамдар мен жануарлар, құстардың бірқатар ауруларын емдеуге арналған, яғни пробиотиктер асқазан - ішек жолдарының патогенді микроорганизмдерін тежеуге, ішектегі пайдалы бактериялардың санын арттыруға, ас қорыту жолының микрофлорасы құрамының сапасын жақсартуға қабілетті. Жалпы, пробиотикалық өнімдер алу үшін қолданылатын микроорганизмдер көптеген шарттарға сай келуі керек. Соның ішінде ерекше атап өтетіндері, пробиотикалық өнімдер құрамына кіретін бактериялардың шартты патогенді болмауы, асқорыту жүйесінің әртүрлі ферменттеріне, өт концентрацияларына, фенолға төзімділік қасиет көрсетуі және рН-ң кең спектрінде белсенділігін сақтап қалуы. Себебі, зерттеулер көрсеткендей, пробиотикалық бактериялардың едәуір бөлігі өнімді сақтау кезінде, сондай-ақ асқазан-ішек жолдары арқылы өту процесінде микроорганизмдердің тіршілігін жоюына байланысты өз белсенділіктерін жоғалтады. Мұның себебі - ашытылған сүт өнімдерінің рН мәнінің төмендігі, тұз қышқылының, өт, фенолдың және асқазан сөліндегі пепсиннің ықпал етуі. Ашу процесі кезінде ішекте индол, скатол, фенол пайда болады, олар пайдалы микрофлораның өсуі мен дамуын тежейді. Лактобактериялардың фенолға төзімді формалары ғана асқазан-ішек жолында тұрақтап қалуға қабілетті. Он екі елі ішекке келіп түскен өт ішектегі көптеген бактериялардың жойылуына алып келеді, яғни бактерияларға антимикробтық қасиет көрсете отырып, олардың жасушалық мембраналары мен ДНҚ-н зақымдайды, өйткені липидтер мен май қышқылдарынан тұратын жасуша мембраналары өт тұздары арқылы жойылуға өте сезімтал. Ал, пепсин ферменті көп жағдайда бактериялардың антимикробтық қасиетін төмендетіп тастайды, әртүрлі диапазондағы рН деңгейі бактериялардың тіршілік қабілетіне және антимикробтық активтілігіне түрлі әсер етеді. Осыған байланысты пробиотикалық микроорганизмдердің тиімділігі олардың осы факторларға төзімділігіне байланысты болып келеді [5, 6].

Сондықтан біз жергілікті дәстүрлі сусын – шұбаттан бөлініп алынған жаңа сүт қышқылды бактериялардың осы аталған шарттарға тұрақтылық қасиет көрсетуін бағалауды мақсат еттік және осы мақалада алынған мәліметтерді көрсеттік.

#### **Қажетті шикізаттар мен әдістер**

Тәжірибе барысында зерттелетін түйе сүтінен бөлініп алынған жаңа штаммдар таңдалып алынды: *Lactobacillus casei* (В 3.2 изоляты), *Enterococcus faecium* (В 5.2 изоляты). Бұл штаммдар ұлттық сүт қышқылды сусын – шұбаттан бөлініп алынған және «Ұлттық Биотехнология Орталығында» идентификациядан өткен, «Антиген» ҒӨК ЖШС мұражайында сақталады. MRS және ЕПА қоректік орталары қолданылды. Барлық химиялық ыдыстар, ерітінділер мен қоректік орталар залалсыздандырылып отырылды.

Түйе сүті мен оның негізінде ашытылған өнімдердің СҚБ зерттеу келесі кезеңдерді қамтиды:

Сүт қышқылды бактериялардың тазалығын, морфологиясын зерттеу. Ол үшін алдын-ала бөлініп алынған СҚБ-ды MRS сұйық қоректік ортасына отырғызамыз, көбейген культураларды Грамм бояуымен бояп, микроскопиялық әдіспен түзілген колониялардың пішінін, көлемін, орналасуын, спора түзуін қараймыз.

Асқазан сөлі құрамындағы пепсинге төзімділігін тексеру. Асқазан сөлінің ерітіндісіне (GI) пепсин (3г/л, Sigma, Сент-Луис, Миссури) қосып, тұз қышқылы (HCl) ерітіндісінің көмегімен рН деңгейін 2-ге келтіреміз. 1 мл рН 7,2 фосфатты-буферлі ерітінді мен 1 мл клетка суспензиясын араластырамыз, 10 мин 25<sup>0</sup>С температурада 6000 айналымда центрифугалаймыз. Оған 5 мл асқазан сөлінің ерітіндісін қосып, 37<sup>0</sup>С-та 90 мин бойы тұрақты араластыра отырып инкубациялаймыз. Әртүрлі уақыт аралықтарында (0-бақылау нүктесі,

30мин, 60 мин, 90мин) сынамалар алынып, микроорганизм мөлшерін  $10^8$  дәрежесіне келтіру үшін физикалық ерітіндімен (0.85г/л) 10 есе сұйылтылды (1мл+9мл), одан әрі MRS +ЕПА қатты қоректік ортасына отырғызып, 37<sup>0</sup>С-та 48 сағат термостатта инкубацияланды. Төменгі қышқылдыққа төзімділігін тексергенде дәл осы әдіс қолданылады, тек рН мәндерін 1.5; 2.0; 2.5-ке келтіреміз және сынамаларды 0 мен 90 мин аралығындағы нуктелерде алып, қоректік ортаға егіп, 37<sup>0</sup>С-та 48 сағатта инкубациялап, өсіп шыққан колонияларды өзара салыстырамыз.

Өт қышқылы тұздарына төзімділігін тексеру. Алдымен штаммдарды дайындаймыз, спектромертия құрылғысының көмегімен микроорганизм мөлшерін орташа 0.2 ге келтіреміз, ол микроорганизм жасуша тығыздығының  $10^8$  КОЕ/мл дәрежесіне тең (ОТ (оптикалық тығыздығы) – 0.2; 620 нм – толқын ұзындығы). СҚБ-н рН 7.2 PBS ерітіндісінде сұйылтып, 10 мин 25<sup>0</sup>С температурада 6000 айналымда центрифугалаймыз. Құрамында 0.3% өт тұзы бар жаңа MRS сорпасын қосамыз, әрі қарай 6 сағат бойы 37<sup>0</sup>С-та термостатта инкубациялаймыз. Жасушалардың тіршілікке қабілеттілігін 0 сағ, 3 сағ, 6 сағ аралығында сынамалар алып, MRS +ЕПА қатты қоректік ортасына егіп, өсіп шыққан колонияларды өзара салыстырып анықтаймыз.

Фенолға төзімділігін тексеру. Спектромертия құрылғысының көмегімен штаммдардың мөлшерін орташа 0.2-ге келтіреміз. Фенолдың әртүрлі концентрацияларын дайындаймыз: бақылау (200 мл MRS фенолсыз); 0.1% (200 мл MRS + 0.2 г фенол), 0.2% (200 мл MRS +0.4 г фенол), 0.3% (200 мл MRS + 0.6 г фенол), 0.4% (200 мл MRS + 0.8 г фенол). Зарарсыздандырылған пробиркаларға 9 мл-ден құйып шығамыз, үстінен 1 мл СҚБ дақылдарын қосамыз, 37<sup>0</sup>С-та 24 сағат инкубациялаймыз. Инкубацияның алдында және соңында ОТ өлшейміз. MRS + агар қоректік ортасына 0.1 мл «0» нүктесі мен «1» нүктесіне егеміз. 24 сағаттан кейін, 1 нүктені сұйық қоректік ортаға (MRS) ауыстырып, ОТ тексеру арқылы штаммдардың өміршеңдігін өлшеу арқылы бағалаймыз [1, 2]. Барлық зерттеулер үш реттен қайталанып жасалды.

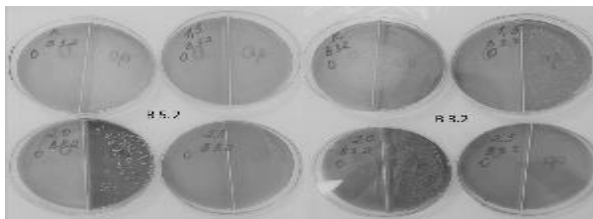
#### **Нәтижелер мен талқылау**

Жұмыс барысында «Антиген» ҒӨК ЖШС мұражайында ұзақ уақыт бойы сақталған штаммдардың тазалығы, морфологиялық сипаттамалары, асқазан-ішек жолдарының шарттарына төзімділігі салыстырмалы түрде анықталды.

Бактериялық жасушалар формасының сыртқы сипаттамасы, Граммен боялуы бойынша жасалған микроскопиялық әдіс нәтижелері бойынша *Lactobacillus casei* (В 3.2 изоляты) – доғал сонды таяқша тәрізді, жеке және тізбектер түзе орналасқан, Грамм оң, *Enterococcus faecium* (В 5.1 изоляты) - домалақ пішінді, көптеген әртүрлі ұзындықтағы тізбектер түзе орналасқан, Грамм оң бактериялар болып танылды.

Жалпы, *Lactobacillus* пен *Enterococcus* туыстарына жататын бактериялар патогенді емес, спора түзбейді, метаболизмнің соңғы өнімі ретінде сүт қышқылы мен пропион қышқылын түзеді, адамдар мен жануарлардың қалыпты микрофлорасын түзейді, яғни табиғи түрде асқазан мен он екі елі ішекте, аш ішекте өте көптеп кездеседі және қалыпты тіршілігінде оң әсер етеді.

Лактобактериялардың физиологиялық ерекшелігі - олардың қышқылға төзімділігі. Лактобактериялардың өсуі үшін рН 5.4-6.4 аздап қышқылданған орталар қолайлы болып табылады, ал рН 3.6-4.0 жеткенде дақылдардың өсуі, түрлері мен штаммдарына байланысты баяулайды. *L. casei* рН 2.8 кезінде де өсу қабілетін сақтайды. Ал энтерококтардың жақсы өсу аймағы рН 4.5-10 құрайды. Әрине сілтілік және бейтарап ортада олардың өсуі баяулай береді [7, 8].



Сурет 1. *Lactobacillus casei* (В 3.2 изоляты) мен *Enterococcus faecium* (В 5.1 изоляты) төменгі қышқылдылықта өсу көрсеткіштері

Суретте көрсетілгендей В 5.2 штамы рН 2.0-де 90 минутта өте жақсы өсім көрсетті, ірі колониялар түзілді, ал В 3.2 штамы рН 1,5 мен 2.0-де 90 минутта көптеген ұсақ колониялар түзіп, жоғарғы өміршеңдік қасиет көрсетті. Яғни, оптималды рН 2,0 және төменгі қышқылдылыққа төзімді болып шықты.

Кесте 1. *Lactobacillus casei* (В 3.2 изоляты) мен *Enterococcus faecium* (В 5.1 изолят) бірнеше уақыт аралығындағы пепсинге төзімділік көрсеткіштері

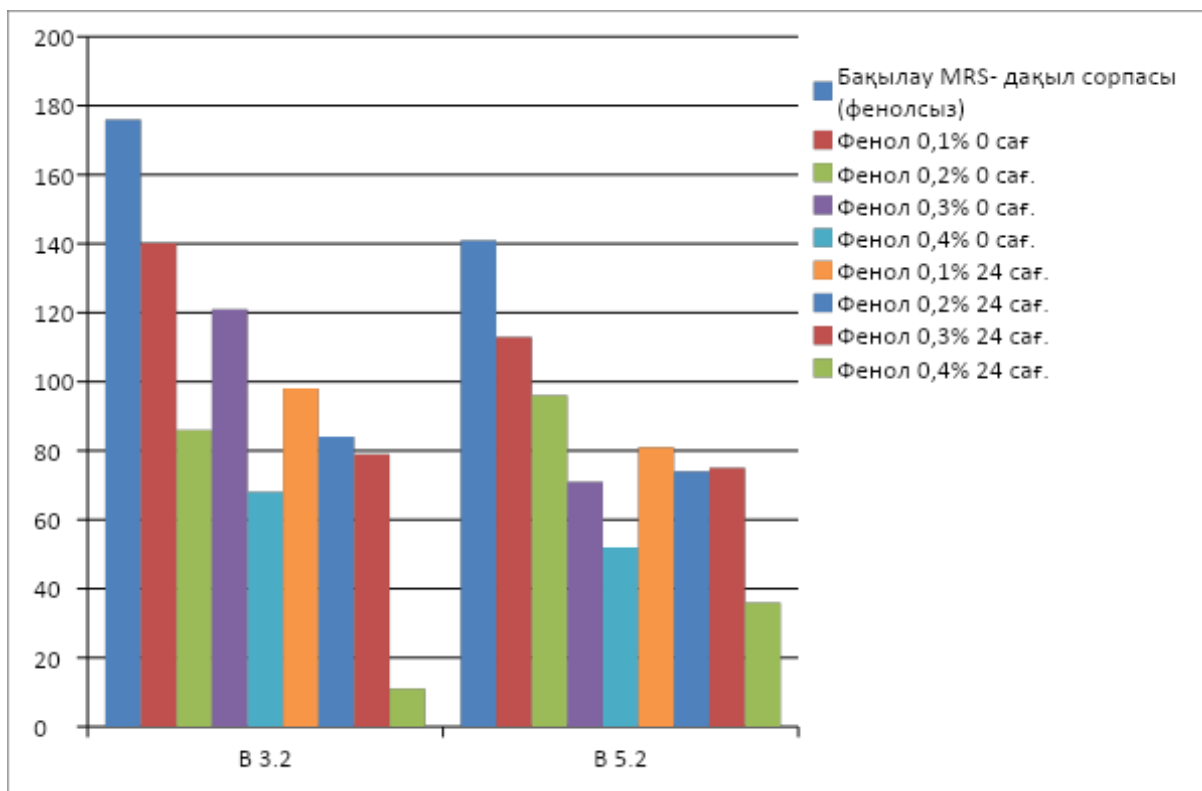
Штаммдар	Бақылау	0 мин	30 мин	60 мин	90 мин
<i>Lactobacillus casei</i>	176	151	120	57	39
<i>Enterococcus faecium</i>	206	187	184	170	168

Асқазан сөлі құрамындағы пепсин ферментіне рН 2.0 деңгейінде В 3.2 штамы орташа тұрақтылық қасиет көрсетті, бақылау сатысында жақсы өсім көрсеткенімен, уақыт өте келе жасушалар саны азая түсті. Ал В 5.2 штамы, керісінше, өте жақсы нәтиже көрсетті, бақылау сатысы мен соңғы 90 мин аралығында тіршілікке қабілетті жасушалар саны салыстырмалы түрде бір деңгейде қалды.

Кесте 2. (В 3.2 изоляты) мен (В 5.1 изолят) 0-ден – 6 сағат аралығындағы 0,3% өт тұзына төзімділік көрсеткіштері

Штаммдар	Бақылау	0 сағат	3 сағат	6 сағат
<i>Lactobacillus casei</i>	154	146	108	35
<i>Enterococcus faecium</i>	176	161	104	58

Асқазан-ішек жолындағы өтке резистентті бактерияларды анықтауда екі штамм да оң нәтиже көрсетті, бақылау сатысында, 0 және 3 сағат аралығында өсіп шыққан колониялар саны В 3.2 үшін 154-108, В 5.2 үшін 176-104 аралығында болды, 6 сағ соң, тиісінше, 35 және 58 колонияларға кеміді.



Сурет 1. *Lactobacillus casei* (B 3.2 изоляты) мен *Enterococcus faecium* (B 5.1 изолят) фенолға төзімділігі

Фенол – ферментация процесі кезінде түзілетін өнім, оның ағзаға, ондағы микрофлораға әсері кері болып жатады. Сондықтан патогенді бактериялардың санын шектеп, пайдалы микроорганизмдердің санын арттыруда фенолға тұрақтылық көрсету маңызды. Диаграммаға қарасақ, екі бактериялар да бақылау сатысында жақсы өсіп көбейді, B 3.2 штаммы 0 сағ-та 0.1% , ен 0.3% ортада 140-120, ал 0.2% бен 0.4%-да 86-68 колония шамасында, 24 сағ-та 0.1-0.3% арасында 98-79 болса, 0.4% күрт 17 колонияға кеміп кетті, салыстырмалы түрде тұрақты. Ал B 5.2 штаммы 0 сағ-та 0.1-0.4% фенолды ортада 118-52, 24 сағ-та 81-36 төңірегінде тіршілікке қабілетті колониялар түзіп, бірқалыпты аздаған мөлшерде кеміп отырды және жақсы тұрақтылық көрсетті.

Демек, зерттеуге алынған екі түрге жататын сүт қышқылды бактериялардың екі штаммы да асқазан-ішек жолдарынның шарттарына қанағаттанарлық дәрежеде төзімділік қасиет көрсете білді. Жоғарғы пробиотикалық потенциалға ие және қолданысқа енгізу мүмкіндігі жоғары.

#### Қорытынды

Еліміздің ауыл шаруашылығының ішкі және сыртқы нарықтағы бәсекеге қабілеттілігін арттыру міндеті өндірістің экономикалық тиімділігін арттыра отырып, олардың экологиялық қауіпсіздігі тұрғысынан жоғары сапалы өнім алу қажеттілігін қатты талап етеді. Антибиотиктерді өсіру стимуляторлары ретінде мал шаруашылығында, құс пен балық өсіруде кеңінен қолдану төзімді микрофлораның түзілуіне әкелді. Сондықтан зерттеудің маңызды бағыты пробиотикалық препараттар құру арқылы ауыл шаруашылығында, сүт өндірісінде экологиялық таза, денсаулыққа оң әсер ететін, тиімді өнімдердің санын арттыру болып табылады. Себебі, бұл препараттар ас қорытуды жақсартады, асқазан-ішек жолдары ауруларын емдейді және қалыпты микрофлорасын реттеп отырады, жұқпалы аурулардың алдын алады және жас буынның өсуіне ықпал етеді [14, 15].

Түйе сүтінің шикі және ферментативті өнімдерінде сүт қышқылды бактериялар көптеп кездеседі. Пробиотикалық қасиеттері мен сипаттамалары штаммдарға байланысты болғандықтан, адам және жануар денсаулығына оң әсер ететін сүт қышқылды бактериялардың жаңа штаммдарының пробиотикалық потенциалдарын анықтау және пайдалану үшін, олардың асқазан-ішек жолдарынан өтуі барысында әр түрлі қышқылдылыққа, ферменттерге, өт қышқылы тұздарына, фенол секілді метаболиттік токсиндерге жоғарғы тұрақтылық көрсетуін зерттеудің ауыл шаруашылық, өндірістік және ғылыми маңызы бар [11, 12].

Болашақта тағы да қосымша зерттеулер жүргізіп, сондай-ақ антибиотиктерге резистенттің, антогонисттік қасиетін, асқазан-ішек эпителийінде сіңірілу дәрежесін зерттей отырып, *Lactobacillus casei* В 3.2 изоляты мен *Enterococcus faecium* В 5.1 изолятарының негізінде пробиотикалық препараттар алу мүмкіндігі жоғары деп айта аламыз.

#### Әдебиеттер

- 1 Reuben R. C., Roy P.C., Sarkar S. L., Rubayet S. M., Jahid I. K. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties// American Dairy Science-2020.-Vol.103, No.2.-P. 1223-1237.
- 2 Edalati E., Saneei B., Alizadeh M., Hosseini S. , Zahedi Bialvaei A. and Taheri K. Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning // New Microbe and New Infect 2019. Vol. 27, No. 4. - P. 64 68.
- 3 Study of Lactic Acid Bacteria Community From Raw Milk of Iranian One Humped Camel and Evaluation of Their Probiotic Properties. Nafiseh Davati, Farideh Tabatabaee Yazdi, Saeed Zibae, Fakhri Shahidi, Mohammad Reza Edalatian // Jundishapur J Microbiol. 2015 May 31.
- 4 Isolation, Molecular Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria in Saudi Raw and Fermented Milk. MagedS.BinMasalam, AhmedBahieldin, MonaG.Alharbi, SaadAl-Masaudi, SoadK.Al-Jaouni, SteveM.Harakeh and RashadR.Al-Hindi // Evid Based Complement Alternat Med. 2018 Jul 25.
- 5 Bokhorst, V. V., H. Van, P. A. Bron, and M. Kleerebezem. 2015. Improving the digestive tract robustness of probiotic lactobacilli. Pages 195–204 in Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends. Caister Academic Press, Norfolk, UK.
- 6 Eid R., El J., Kandil. Z., Hahne M, Seida A. (2016) Potential Antimicrobial Activities of Probiotic Lactobacillus Strains Isolated from Raw Milk. Probiotics & Health, vol.4, pp. 54-58.
- 7 Осипова И.Г., Сорокулова И.Б., Васильева Е.А., Буданова Е.В. Доклинические испытания новых споровых пробиотиков // Вестн. Рос. Академии мед. наук. – 2005. – № 12. – С. 36–40.
- 8 Eid R., El J., Kandil. Z., Hahne M, Seida A. (2016) Potential Antimicrobial Activities of Probiotic Lactobacillus Strains Isolated from Raw Milk. Probiotics & Health, vol.4, pp. 54-58.
- 9 Choi, A. R., J. K. Patra, W. J. Kim, and S. S. Kang. 2018. Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food. Front. Microbiol. 9:1963. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01963>.
- 10 A tolerant lactic acid bacteria, *Lactobacillus paracasei*, and its immunoregulatory function// Xiaohong Kou 1, Qiong Chen, Xiaoying Ju, Huiping Liu, Wenrong Chen, Zhaohui Xue. Epub 2014 Sep 10.
- 11 International Journal of Biological Macromolecules/Volume 86, May 2016, Pages 462-467//Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 39392 Authors: Behnaz Dahri/Dahrouda/RezaRezaiMokarrama/MahmoudSowtiKhiabania/HamedHamishehkar/AbedZahediBialvaeic/MehdiYousefi/Hossein SamadiKafil
- 12 Microbiological Research// Volume 164, Issue 1, January 2009, Pages 81-91// Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco//Authors: K.Khedida/M.Faid/A.Mokhtari/A.Soulaymani/A.Zinedined.



13 Almeida Júnior, W. L. G., Í. S. Ferrari, J. V. de Souza, C. D. A. da Silva, M. M. da Costa, and F. S. Dias. 2015. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. Food Control 53:96–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.013>

14 Eid R., El J., Kandil. Z., Hahne M, Seida A. Potential Antimicrobial Activities of Probiotic Lactobacillus Strains Isolated from Raw Milk// Probiotics & Health-2016. – Vol.4, No.4. – P. 54-58.

15 Zaslavskaya M., Makhrova T., Aleksandrova, N., Ignatova N., Belova I., Tochilina A., Solovyeva I. (2019) Prospects for using bacteriocins of normal microbiota in antibacterial therapy (review). Sovremennye tehnologii v medicine, vol. 11, pp. 136–145.

УДК: 58.01 / 07: 632.7 (577.15)

### **GK: FG (GK-Zn) ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ ПРИ РАЗВИТИИ И РАЗВИТИИ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ**

Шодиев Д.Т., Джураев Т.А., Маматкулова М.Б.  
Гулистанский Государственный Университет, Узбекистан  
e-mail: [idilmurod298@gmail.com](mailto:idilmurod298@gmail.com)

**Абстракт.** Согласно результатам исследований, активация гидролитических ферментов ФГ ( $\alpha$ -амилазы, протеазы и др.) Как стимулятора процесса прорастания семян растений увеличивает количество трудно прорастающих растений. В ходе исследования также изучалось влияние комплекса GK-Zn на прорастание зерна пшеницы, при этом активность FG связана с активным осуществлением метаболических процессов в тканях и клетках растений.

**Ключевые слова:** природные физиологически активные вещества, уровень толерантности, засоление, глицирризиновая кислота, фитогормоны, супрамолекулярный комплекс, биологически активные, сельскохозяйственные растения.

Многие научные центры по всему миру уделяют особое внимание определению механизма действия природных физиологически активных веществ с целью повышения урожайности растений. Одна из важнейших задач в сельском хозяйстве - повышение устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды, в том числе к засолению. В то же время высоко оцениваются перспективы использования фитогормонов, выступающих в качестве медиаторов внешних сигналов в тканях и клетках растений. Повышение устойчивости растений к стрессовому фактору за счет стабилизации и повышения уровня функциональной активности биологической мембраны растительной клетки под действием фитогормонов, нормализации обменных процессов в клетке.

Таким образом, глицирризиновая кислота - одно из важнейших природных физиологически активных веществ и многообещающих агентов. Цель исследования - получение супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты (ГА) с фитогормонами (ФГ) и определение их биологической активности в сельскохозяйственных растениях.

Таким образом, семена растений FG важны в процессе прорастания. Также было обнаружено, что в процессе прорастания семян ФГ взаимодействуют сложным образом, контролируя эффекты друг друга. Эти механизмы, включая механизмы равновесия передачи сигналов GC3 / АВК, были подробно проанализированы в работах некоторых исследователей.

Отмечено, что активность  $\alpha$ -амилазы в ростках пшеницы увеличивается в несколько раз в процессе прорастания. ФГ в процессе прорастания пшеницы Механизмы стимулирующего действия изучались рядом исследователей. GC3 важен во время роста и развития злаков и всего процесса онтогенеза, а активность ингибитора  $\alpha$ -амилазы под влиянием GC3 в клетках алейронового слоя при прорастании зерна пшеницы, в свою очередь, обусловлена  $\alpha$ -амилазой.

[61; Таблица 1.6] В следующей таблице 5.6 показаны результаты влияния супрамолекулярных комплексов GC: FG на активность фермента  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы в развитии зерна пшеницы (рис. 1).

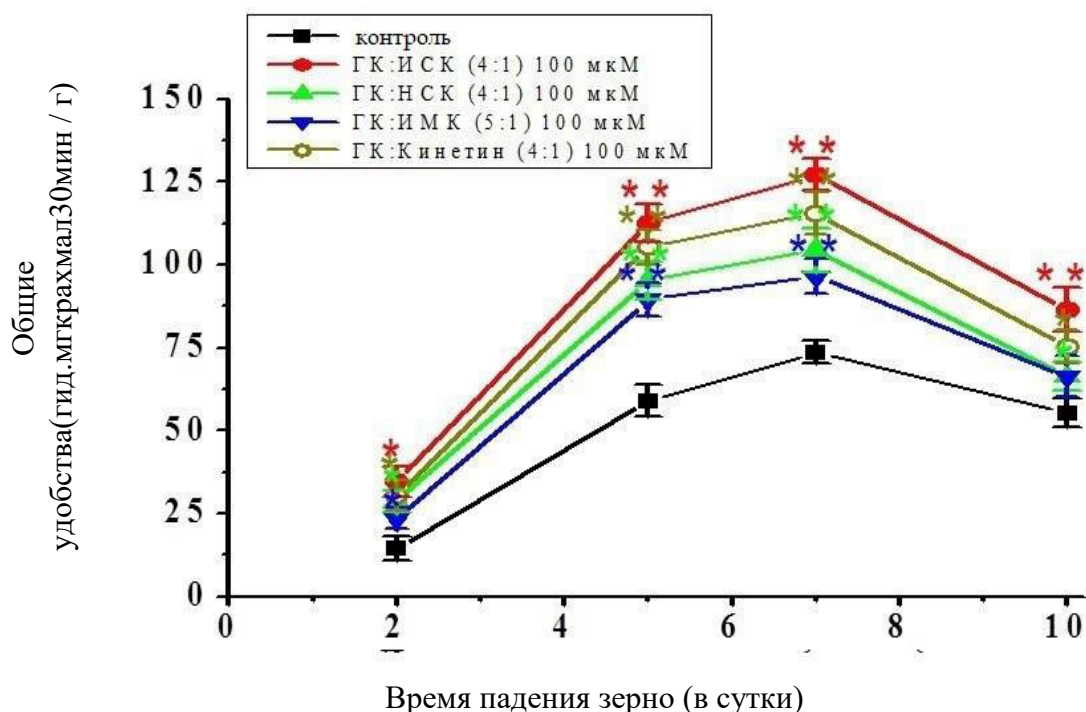


Рисунок 1. ГК: Динамика влияния супрамолекулярных комплексов FG (ISK, NSK, ИМК и кинетин) на активность  $\alpha$ -амилазы в процессе проращивания пшеницы сорта «Дуслик» (2, 5, 7 и 10 сут) в лабораторных условиях. По оси ординат - активность  $\alpha$ -амилазы (мг. Мг крахмала  $\times$  30 мин / г); по оси абсцисс - время опадания (в днях) зерна (\* - степень статистической достоверности значений опытного варианта относительно контроля  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ).

Так, в опытном контрольном варианте величина суммарной амилолитической активности пшеницы в процессе проращивания пшеницы в лабораторных условиях на 2, 5, 7 и 10 дни составляет  $14,5 \pm 3,6$ ;  $58,9 \pm 4,8$ ;  $73,6 \pm 3,5$  и  $55,2 \pm 4,4$  (гидр. Мг крахмала  $\times$  30 мин / г). Видно, что в процессе проращивания общая амилолитическая активность пшеницы увеличивалась через 2-7 дней, достигала максимума через 7 дней и снижалась через 10 дней (рис. 1).

В экспериментах при концентрации 100 мкМ ГК: ИСК (4: 1), ГК: НСК (4: 1), ГК: ИМК (5: 1) и супрамолекулярных комплексов ГК: Кинетин в условиях инкубации пшеницы в процессе прорастания общая амилолитическая активность в зерне 2, На 5, 7 и 10 дни наблюдали значительное увеличение общей амилолитической активности по сравнению с контролем. В частности, значение этого показателя на максимальном уровне за 7 дней составляет  $127,3 \pm 4,8$ ;  $104,5 \pm 6,6$ ; Определяли  $96,7 \pm 5,3$  и  $115,6 \pm 6,4$  (гидра. Мг крахмала  $\times$  30 мин / г) (таблица 1).

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Таблица 1. ГХ: Влияние супрамолекулярных комплексов ФГ (ISK, NSK, ИМК и кинетин) на активность  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы в зерне пшеницы сорта «Дустлик» в лабораторных условиях ( $M \pm m$ )

Эксперименты	Активность $\alpha$ -амилазы (гидр. крахмал $\times$ 30 мин / г)		$\beta$ -амилазная активность (гидр. крахмал $\times$ 30 мин / г)	
	Контроль	NaCl (200 мМ)	Контроль	NaCl (200 мМ)
Контроль (дистиллированная вода)	54,5 $\pm$ 2,7	18,3 $\pm$ 0,4**	19,1 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 0,4**
ГК:ИСК (4:1) 100 мкМ	74,6 $\pm$ 3,5*	46,3 $\pm$ 4,5*	52,7 $\pm$ 1,2**	12,8 $\pm$ 0,4*
РГ: NSK (4: 1) 100 NEA	58,3 $\pm$ 5,6*	33,4 $\pm$ 2,8*	46,2 $\pm$ 2,5**	15,5 $\pm$ 0,2*
РГ: ИМК (5: 1) 100 NEA	63,5 $\pm$ 4,4*	42,7 $\pm$ 3,9*	33,2 $\pm$ 2,4*	10,4 $\pm$ 0,3*
РГ: Кинетины (4: 1) 100 СВ	59,4 $\pm$ 5,2*	45,2 $\pm$ 3,3*	56,2 $\pm$ 4,1**	16,8 $\pm$ 0,2*

*Примечание:* \* - степень статистической достоверности относительно контроля  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  ( $n = 3-4$ ).

В контрольных и опытных условиях засоления ГК: ИСК (4: 1), ГК: НСК (4: 1), ГК: ИМК (5: 1) и супрамолекулярные комплексы ГК: Кинетин в процессе роста (7 дней) в зерне  $\alpha$ - и  $\beta$ -Изучено влияние на активность амилазы (Таблица 1).

Так, в опытах активность  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы в контрольном варианте через 7 дней роста зерна составила 54,5  $\pm$  2,7 и 19,1  $\pm$  0,3 гидры соответственно. мг крахмала  $\times$  30 мин / г, а при опытном засолении (NaCl = 200 мМ) значения этого показателя адекватны - 18,3  $\pm$  0,4 и 6,5  $\pm$  0,4 гидры. мг крахмала  $\times$  30 мин / г.

Концентрации супрамолекулярных комплексов ГК: ИСК (4: 1), ГК: НСК (4: 1), ГК: ИМК (5: 1) и ГК: кинетин в концентрации 100 мкМ значительно повышали активность  $\alpha$ -амилазы по сравнению с контролем, т.е. в пути - 74,6  $\pm$  3,5; 58,3  $\pm$  5,6; 63,5  $\pm$  4,4 и 59,4  $\pm$  5,2 гидры. мг крахмала  $\times$  30 мин / г. Также при экспериментальном засолении (NaCl = 200 мМ) в концентрации 100 мкМ  $\alpha$ -амилазы под влиянием супрамолекулярных комплексов ГК: ИСК (4: 1), ГК: НСК (4: 1), ГК: ИМК (5: 1) и ГК: Кинетин. активность соответствующая - 46,3  $\pm$  4,5; 33,4  $\pm$  2,8; 42,7  $\pm$  3,9 и 45,2  $\pm$  3,3 гидры. выделяют мг крахмала  $\times$  30 мин / г.

В экспериментах при концентрации 100 мкМ ГК: ISK (4: 1), GK: NSK (4: 1), GK: ИМК (5: 1) и супрамолекулярные комплексы GK: Kinetin при инкубации значительно повышали активность  $\beta$ -амилазы по сравнению с контролем, т.е. соответствующим образом - 52,7  $\pm$  1,2; 46,2  $\pm$  2,5; 33,2  $\pm$  2,4 и 56,2  $\pm$  4,1 гидры. мг крахмала  $\times$  30 мин / г. Также при экспериментальном засолении (NaCl = 200 мМ) в концентрации 100 мкМ  $\beta$ -амилазы под воздействием супрамолекулярных комплексов ГК: ИСК (4: 1), ГК: НСК (4: 1), ГК: ИМК (5: 1) и ГК: Кинетин. активность соответствующим образом - 12,8  $\pm$  0,4; 15,5  $\pm$  0,2; 10,4  $\pm$  0,3 и 16,8  $\pm$  0,2 гидры. мг крахмала  $\times$  30 мин. / г.

В норме активность  $\alpha$ -амилазы в зернах в состоянии покоя минимальна и резко возрастает при прорастании. В частности, исследования показали увеличение биосинтеза  $\alpha$ -амилазы во время роста. Синтезированная  $\alpha$ -амилаза секретируется эндосептиком и участвует

в гидролизе крахмала. Максимальная активность амилолитических ферментов при прорастании пшеницы обычно наблюдается через ~ 3-6 дней.

По результатам исследования ожидается, что активация ФГ гидролитическими ферментами ( $\alpha$ -амилаза, протеаза и др.) Как стимулятора процесса роста семян растений приведет к увеличению количества труднорастущих видов растений.

В исследовании также изучалось влияние комплекса GK-Zn на прорастание зерен пшеницы, при этом активность FG связана с активной реализацией метаболических процессов в тканях и клетках растений. Процесс обмена веществ также связан с наличием микроэлементов в клетках и тканях. Исследования показали, что микронутриент Zn влияет на обмен веществ и продуктивность растений. Поэтому в ходе исследования были выявлены перспективы использования комплекса GK-Zn для повышения урожайности сельскохозяйственных культур в сельском хозяйстве за счет оптимизации показателей активности в росте и развитии пшеницы.

В ходе очередной серии лабораторных исследований в лаборатории наблюдали концентрацию глицирризиновой кислоты с  $Zn^{2+}$  + (GC-Zn) (0,5-100 мкМ) сорта пшеницы Краснодар изучалось влияние на активность антиоксидантных ферментов (таблица 2).

Таблица 2. Влияние комплекса GK-Zn на урожайность новой пшеницы «Краснодар» ( $M \pm m$ )

Экспериментальные варианты	Темп роста (%)	Длина травы (мм)	Длина корня (мм)	Масса биомассы во влажном состоянии (г)	Масса биомассы в сухом состоянии (г)
Контроль (дистиллированная вода)	84,1	13,13 $\pm$ 0,55	10,04 $\pm$ 0,43	2,004 $\pm$ 0,32	0,201 $\pm$ 0,03
GK-Zn ( $5 \times 10^{-5}$ M)	92,1**	14,54 $\pm$ 0,54	10,98 $\pm$ 0,31*	2,011 $\pm$ 0,12*	0,208 $\pm$ 0,01*
GK-Zn ( $1 \times 10^{-6}$ M)	95,2**	18,34 $\pm$ 0,33**	14,13 $\pm$ 0,45**	2,213 $\pm$ 0,22**	0,234 $\pm$ 0,02**
GK-Zn ( $1 \times 10^{-5}$ M)	91,3**	16,02 $\pm$ 0,41**	14,04 $\pm$ 0,64**	2,105 $\pm$ 0,17**	0,228 $\pm$ 0,02**
GK-Zn ( $5 \times 10^{-5}$ M)	90,1**	13,65 $\pm$ 0,37*	11,12 $\pm$ 0,23**	2,065 $\pm$ 0,13*	0,219 $\pm$ 0,05**
GK-Zn ( $1 \times 10^{-4}$ M)	88,5*	13,02 $\pm$ 0,28*	10,34 $\pm$ 0,53*	2,011 $\pm$ 0,53*	0,213 $\pm$ 0,03*
GK-Zn ( $1 \times 10^{-3}$ M)	85,8*	14,45 $\pm$ 0,55**	9,43 $\pm$ 0,54*	2,008 $\pm$ 0,23*	0,205 $\pm$ 0,03*

Примечание: представляет собой степень статистической достоверности разницы значений экспериментальных групп относительно контрольной группы (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ).

Под действием GK-Zn степень прорастания краснодарской пшеницы в лабораторных условиях и, в свою очередь, длина корня, масса биомассы во влажном и сухом состоянии увеличивались по сравнению с контролем (табл. 2).

### Литература

1 Djuraev T.A., Kushiev X. X. Influence of glycyrrhizinic acid with phytohormones on the appearance of xlochatnika (*Gossypium hirsutum*L.) Supramolecular complexes // International Journal of Modern Microbiology and Applied Sciences, 2019. Volume 8, number 11 ISSN: 2319. Home page of the magazine: <http://www.ijcmas.com>

2 Джураев Т.А., Кушиев Х.Х. Оптимизирующее влияние супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты с фитогормонами на опытное засоление пшеницы

(Triticum aestivum L.) Урожайность зерна // Вестник Гулистанского государственного университета. Серия естествознания. 2019. -№ 3. -С.46-55.

УДК 631.8.022.3

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ И КАЧЕСТВА ЗЕРНА РИСА С ПОМОЩЬЮ БИОЛОГИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ НАСЛЕЕ, ПРЕПАРАТА ФИТОП 8.67 И МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Н.П. Ыбрайкожа<sup>1,2</sup>, А.М. Токтамысов<sup>3</sup>, Э.Ш. Елеуова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кызылординский Университет имени Коркыт Ата, г. Кызылорда, Республика Казахстан

<sup>2</sup>Yessenov University Науки и технологии, г. Актау, Республика Казахстан

<sup>3</sup>Казахский научно-исследовательский институт рисоводства им. И.Жахаева, г. Кызылорда, Республика Казахстан,

e-mail:korkut@mail.ru

**Аннотация.** Биоудобрения становятся все более популярными во многих странах и для множества культур, но очень мало исследований по их влиянию на урожай риса. Нами были проведены исследования двух разных биопрепаратов на Приаралье в течение четырех сельскохозяйственных сезонов между 2016 и 2019 гг. В статье приведены результаты исследования по использованию комплексных жидких удобрений и биологических препаратов. Целью исследования является применения комплексных жидких удобрений, биологических препаратов и анализ агроэкологической эффективности на рост риса в условиях Приаралья.

**Ключевые слова:** биологическое удобрение, препараты, рис, стрессоустойчивость, энергия прорастания, урожайность, антидепрессант.

### Введение

Основная и стратегическая задача агропромышленного комплекса Республики Казахстан – это повышение производства зерна и обеспечения продовольственной безопасности страны. Поэтому ускоренное и устойчивое развитие зерновой отрасли и диверсификация растениеводства – это первостепенная задача агропромышленного комплекса страны. Ведущим направлением развития сельского хозяйства в условиях основного рисосеющего региона – Казахстанского Приаралья это устойчивое развитие рисоводства и повышение урожайности зерна [1-3].

Благодаря применения комплексной, интегрированной технологий возделывания риса и при строгом их соблюдений в условиях Австралии и Египта средняя урожайность зерна составил 102,9; 93,7 ц/га, в США – 81,1 ц/га, Турции – 79,3 ц/га, В Китае 65 – 68 ц/га (на площади свыше 32 млн.га). Однако, во многих странах такой высокой урожайности зерна риса на большой площади, в том числе в Казахстанском Приаралье получить не так просто [4-5].

Сложившиеся критические экологические обстановки в Казахстанском Приаралье вынуждает рисоводов сократить площади орошаемых земель, занятых рисом. Поэтому повышение урожайности зерна риса является актуальной задачей. Решение этой проблемы связаны с глубоким и всесодержащим изучением роли микроудобрений в системе удобрения риса в условиях Казахстанского Приаралья.

Азот (N) - это основное питательное вещество, необходимое для роста и развития растений. Поиск экологически чистого и экономичного заменителя азотных удобрений в настоящее время сосредоточен на эндофитные diaзотрофные бактерии, которые, как предполагалось, несут ответственность за обеспечение биологически фиксированного азота N [6-7].

Биологические препараты и микроудобрения для защиты растений являются экологически безопасной альтернативой химическим (синтетическим) пестицидам.

Замещение химических пестицидов биопрепаратами в сельском и лесном хозяйстве происходит не столь быстрыми темпами, как можно было бы ожидать. Доказаны возможности иммунизации обработанных растений и последующего снижения пораженности посевов и посадок различных культур рядом инфекций, передающихся с семенами, через почву, а также воздушно-капельным путем[8-9].

В связи с этим, в 2016-2019 годах проводились исследования с использованием выше указанных биопрепаратов Фитоп 8,67 и биоудобрений NacLee. Биологический препарат *Fumon 8.67* – современный биологический полифункциональный препарат. Обладает комплексным действием на культурные растения, вредные организмы и почву.

В состав препарата входят в равных пропорциях 3 штамма сапротрофных бактерий: *Bacillus subtilis* ВКПМ В 10641, *B. Amyloliquefaciens* ВКПМ В 10642, *B. Amyloliquefaciens* ВКПМ В 10643 из коллекции ООО НПФ «Исследовательский центр», выделенных в экологически чистых районах Сибири и отобраных авторами-разработчиками.

Препарат Фитоп 8.67 обладает следующими свойствами:

- стимулирует рост корневой системы, надземной части и общей биомассы у растений;
- подавляет возбудителей болезней растений;
- повышает активность почвенной микрофлоры, очищает почву от болезнетворных микробов и повышает её плодородие;
- повышает стрессовую устойчивость растений – зимостойкость, засухоустойчивость;
- в результате повышает урожайность – до 25-30%.

Биологическое удобрение NacLee – это экологически безопасное жидкое удобрение, направленное на сохранение и защиту природы и экосистемы без причинения вреда диким птицам и скотам. Имеет много преимуществ, в том числе почвенное питание и прикорневую подкормку, что способствует сбалансированному росту, развитию растений и отличному оплодотворению, и цветению.

#### **Материалы и методы исследований**

В наших исследованиях проведены предпосевная обработка семян NacLee в дозе 1л и Фитопом в дозе 2 мл на тонну семян риса, что существенно повлияло на мощность и выживаемость корней риса. На опытных вариантах с Фитопом и NacLee в сравнении с контролем длина корней увеличилась в 1,5 раза. Анализы показали, что протравливание семян и внекорневая подкормка во время вегетации культуры риса NacLee и Фитопом 8.67 получены урожайность риса в опытах на 89,2 ц/га и 82,4 ц/га соответственно.

Полевой опыт был заложен на рисовой оросительной системе Казахского НИИ рисоводства им. И.Жахаева. Посев риса проводили селекционной сеялкой рядовым способом глубина заделки семян 2-3см. Норма высева 7,5 млн. всхожих зерен на гектар.

#### **Результаты и обсуждение**

Проведенные исследования показали, что применения биопрепарата Фитоп 8,67, биоудобрения NacLee и других минеральных удобрений очень эффективно повлияло на повышения урожайности риса.

Таблица 1. Результаты учета биологической урожайности культуры риса при использовании жидких биологических микроудобрения NacLee и препарата Фитоп 8,67

Вариант	Урожайность, ц/га			
	I	II	III	Среднее
Контроль	64,2	61,2	60,0	61,8
NacLee (протравливание семян, внекорневая подкормка)	82,0	82,8	82,3	82,4
Фитоп 8,67 (протравливание семян, внекорневая подкормка)	89,5	88,9	89,1	89,2

International scientific and practical conference  
**"Aspects and innovations of environmental biotechnology and bioenergy"**

Урожайность риса под влиянием данного биологического жидкого микроудобрения и препарата в основном происходило за счет большей сохранности растений и повышения продуктивного стеблестоя, увеличение масса 1000 семян, повышением озаренности метелки.

Таблица 2. Вегетационный период, густота стояния растений и урожайность сорта риса Сыр Сулуы от обработки препаратом «Фитоп 8,67» 2019 г.

№ п/п	Сорт	Вариант опыта	Вегетационный период, дней	Густота стояния раст.шт/м <sup>2</sup>	Урожайность	
					ц/га	%
1	Сыр Сулуы	безобработки	110	59	57,5	100
2	Сыр Сулуы	обработанные	108	65	62,2	108

Таблица 3. Влияние препарата «NacLee» на структуру урожая сорта риса Сыр Сулуы, 2019 г.

№ п/п	Сорт	Вариант опыта	Высота растений, см	Кустистость, шт.	Главная метелка			Количество всего зерен, шт.	Урожайность, ц/га
					кол - во, шт	длина, см	масса ,г		
1	Сыр Сулуы	безобраб .	141,8	3,0	3,0	13,0	8,96	365,2	37,0
2	Сыр Сулуы	обр.	143,0	6,2	6,0	15,8	11,5	392	40,0

По данным биометрического анализа на контрольном варианте продуктивная кустистость – 2,9, длина главной метелки – 18,7; количество зерен на главной метелке – 89,7 штук и вес зерна – 2,9; количество зерен с 1 растения – 117,5 штук. На варианте с NacLee продуктивность кустистость – 3,3; длина главной метелки – 19,9; количество зерен на главной метелке – 104,6 и вес зерна – 3,4; и количество зерен с 1 растения – 167,6 штук. А на варианте с использованием Фитопа 8,67 продуктивная кустистость составила – 3,3; длина главной метелки – 21,1; количество зерен на главные метелки – 121,0 и вес зерна – 4,5; и количество зерна с 1 растения – 177,3 штук.

#### **Заключение**

Биологические препараты и микроудобрения для защиты растений являются экологически безопасной альтернативой химическим (синтетическим) пестицидам. Результаты полевых опытов с биологическим жидким микроудобрением NacLee и препаратом Фитоп 8.67 на рисе показали, что наиболее эффективными приемами внесения микроудобрений являются предпосевная обработка семян и внекорневая подкормка в фазах кущения и колошения культуры риса. Объясняется это тем, что эти микроудобрения и препарат, стимулируют рост мощной корневой системы и надземной массы растений риса. При обработке риса в фазе кущения минеральным удобрением Микрокат зерновой старт и Келик К + Si в фазе выход в трубку площадь листьев одного растения по сравнению с

контрольным увеличилось в два раза. Это обеспечивало повышение урожайности главным образом за счет снижения пустозерности и увеличения массы зерна с растения.

Таким образом, результаты полевых опытов с биологическим жидким микроудобрением NacLee и препаратом Фитоп 8.67 на рисе показали, что наиболее эффективными приемами внесения микроудобрений являются предпосевная обработка семян и внекорневая подкормка в фазах кущения и колошения культуры риса. Объясняется это тем, что эти микроудобрения и препарат, стимулируют рост мощной корневой системы и надземной массы растений риса. В конечном итоге это обеспечивает довольно существенную прибавку урожая.

#### *Литература*

- 1 Vessey J.K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255. pp. 571–586.
- 2 Bhattacharyya P.N., Jha D.K. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (pgpr): emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol* 28 (4). pp. 1327–1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- 3 Biswas J. C., Ladha J. K., Dazzo F. B., Yanni Y. G., Rolfe B.G. (2000) Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal* 92 (5). pp.880. doi:10.2134/agronj2000.925880x.
- 4 Bottini R., Cassán F., Piccoli P. Gibberellin (2004) Production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl Microbiol Biotechnol* 65. pp.497–503. doi: 10.1007/s00253-004-1696-1.
- 5 Bockman O.C., Kaarstad O., Lie O.H., Richards I. (1997) Agriculture and fertilizers: fertilizers in perspective. Norsk Hydro, Oslo. pp.245
- 6 Dobbelaere S., Vanderleyden J., Okon Y. (2003) Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci* 22. pp.107–149
- 7 Hakeem K.R., Ahmad A., Iqbal M., Gucel S., Ozturk M. (2011) Nitrogen-efficient cultivars can reduce nitrate pollution. *Environ Sci Pollut Res* 18. pp. 1184–1193.
- 8 Hakeem K.R., Chandna R., Ahmad A., Iqbal M. (2012) Physiological and molecular analysis of applied nitrogen in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Rice Sci* 19(3). pp. 213–222
- 9 Kennedy I.R., Cocking E.C. (1997) Biological nitrogen fixation: the global challenge and future needs. SUNFix Press, University of Sydney, Sydney. pp. 83 ISBN 1-86451-364-7





**СЕКЦИЯ №2.  
ИННОВАЦИИ И ДОСТИЖЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ**

**SECTION №2.  
BIOENERGY INNOVATIONS AND ACHIEVEMENTS**

UDC 602.3: 579.8; 606:622.75

## PROSPECTS OF HETEROCYSTIC CYANOBACTERIA IN THE PRODUCTION OF BIOHYDROGEN

B.K. Zayadan<sup>1</sup>, Tomo Tatsuya<sup>2</sup>, A.B. Kakimova<sup>1</sup>, B.D. Kossalbayev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*Tokyo University of Science, Japan, Tokyo*

*e-mail:ardakkakimova1@gmail.com*

**Abstract.** The growth of energy consumption and environmental protection are the two main trends that are the main reasons for the search for new sources of energy. Currently, there is a need to develop new clean energy technologies based on the use of renewable energy sources, which, in turn, can replace non-renewable energy resources as they become depleted or become more expensive. Molecular hydrogen is one of the potential future energy sources as an alternative to the limited fossil fuel resources of today. Its advantages as fuel are numerous: it is eco-friendly, efficient, renewable, and during its production and utilization no CO<sub>2</sub> and at most only small amounts of NO<sub>x</sub> are generated. In this review we aim to discuss about photobiological hydrogen production by cyanobacteria and enzyme systems for hydrogen production.

**Keywords:** *cyanobacteria, hydrogen production, hydrogenase, nitrogenase*

### Introduction

The current direction in bioenergy is the search for objects capable of producing hydrogen that do not pollute the environment, as well as the development of technologies that allow you to get a high yield of hydrogen. Photosynthetic organisms attract special attention in this regard, the most promising of which are cyanobacteria [1]. The use of cyanobacteria as possible producers of hydrogen is very relevant and profitable, since they form hydrogen as a result of solar energy conversion and do not require complex or expensive nutrient media for in vitro cultivation [2].

#### *Biohydrogen production*

Hydrogen is the most abundant element in the universe, comprising approximately 75% of all matter by weight, molecular hydrogen exists in only trace amounts within the Earth's atmosphere. As a gaseous and carbon-free fuel, hydrogen can be combusted with water and therefore is regarded as a clean nonpolluting fuel. Hydrogen is produced by steam reformation of methane, gasification of coal and biomass, and metabolic pathway of special type of microorganisms, commonly known as biological hydrogen production. Biological hydrogen evolution provides a sustainable and environmentally friendly way to produce clean energy from renewable resources. Biological hydrogen production processes are mostly controlled by either photosynthetic or fermentative organisms. Hydrogen can be produced biologically by direct biophotolysis, indirect biophotolysis, photofermentation, dark fermentation, combination of these processes (such as integration of dark- and photofermentation, etc.) or by water-gas shift reaction. Among a selection of biological systems, cyanobacteria have become a major source as potential cell factories for hydrogen production. They are highly promising microorganisms for biological photohydrogen production. Cyanobacteria grow by photosynthesis, and essentially contain chlorophyll and various carotenoids whose main functions are light-harvesting and photoprotection. They produce chlorophyll *a*, and most also have characteristic pigments called phycobilins, which function as accessory pigments in photosynthesis [3].

The production of hydrogen, as a by-product of the metabolism of microorganisms, is a relatively new direction of technological development and a promising renewable energy source. Since the possibility of such reactions in living organisms was demonstrated more than half a century ago, the process of biophotolysis carried out by cyanobacteria has been actively studied over the past 35 years. During this time, the main molecular mechanisms of hydrogen formation by living systems were studied. Hydrogen production has been studied in a wide range of cyanobacteria species and

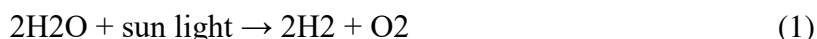
strains. The efficiency of hydrogen production depends on the metabolic potential of microorganisms, which in turn depends on the type of cyanobacteria. To date, it is known that representatives of more than 14 genera of cyanobacteria produce hydrogen under various cultivation conditions. It is necessary to highlight some of them, for example: single-celled non-nitrogen-fixing cyanobacteria *Gloeocapsa alpicola* under conditions of sulfur starvation showed increased hydrogen production [4]. In addition, it was found that *Arthrospira* can produce hydrogen (1 micromol / mg / dry cell mass / hour) under dark anaerobic conditions [5]. The hydrogen-producing activity of members of the genus *Anabaena* has been well studied. For example, *Anabaena cylindrica* produced hydrogen and oxygen simultaneously in an argon atmosphere for 30 days under limited light conditions [6]. *Anabaena* spp. is able to produce a significant amount of hydrogen, and *Anabaena cylindrica* produces the largest amount of hydrogen under conditions of nitrogen deficiency. In addition, *Cyanothece* 51142 is currently one of the most promising nitrogen-fixing cyanobacteria. There is also a complete metabolic model of *Cyanothece* 51142 for evaluating the general theoretical ability of this organism to produce hydrogen [7]. There are some data on the production of hydrogen by halotolerant cyanobacteria, among which *Aphanothece halophytica* demonstrated a good potential [8].

The morphological features of cyanobacteria make them the most promising producers of hydrogen. This is especially true for heterocystic forms of cyanobacteria, in which the processes of oxygen and hydrogen release are spatially separated. Because of these features, heterocystic cyanobacteria are able to release hydrogen in the presence of molecular oxygen and conduct light-dependent hydrogen release [9, 10].

#### *Enzyme systems for hydrogen production*

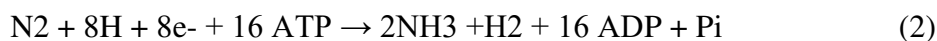
The rate of hydrogen release by cyanobacteria is determined by the genetic ability to synthesize the necessary enzymes, as well as by the internal and external metabolic and environmental conditions that provide the necessary energy [11].

Cyanobacteria can release protons and electrons in the process of splitting water, using solar energy [12]. Hydrogen is formed by the direct absorption of light and the transfer of electrons through two different enzymes, namely hydrogenases and nitrogenases. This reaction is shown below:



The first one is hydrogenase. Hydrogenase catalyzes the simplest chemical reaction - the reversible reduction of hydrogen from protons and electrons. The study showed that the electrons and protons formed as a result of water splitting reactions are remixed with hydrogenase with the release of high-purity  $\text{H}_2$ . Hydrogenases occur as two distinct types in different cyanobacterial species. One type of them, uptake hydrogenase, has the ability to oxidize hydrogen and the other type of hydrogenase is reversible or bidirectional hydrogenase [13]. The biological role of bidirectional or reversible hydrogenase is poorly understood and thought to control ion levels in the organism. Reversible hydrogenase is associated with the cytoplasmic membrane and likely functions as an electron acceptor from both NADH and  $\text{H}_2$ . The reversible hydrogenase is a multimeric enzyme consisting of either four or five different subunits apparently depending on the species. Unlike uptake hydrogenase, reversible hydrogenases are helpful in hydrogen production.

The second enzyme is Nitrogenase and it is found in the heterocysts of filamentous cyanobacteria when they grow under nitrogen limiting conditions. Nitrogenase catalyzes the formation of hydrogen and simultaneously reduces nitrogen to ammonia. It is activated in the heterocysts of filamentous cyanobacteria under conditions of low nitrogen content. Hydrogen is formed as a by-product. The reaction consumes ATP and has the general form shown in Figure 1.



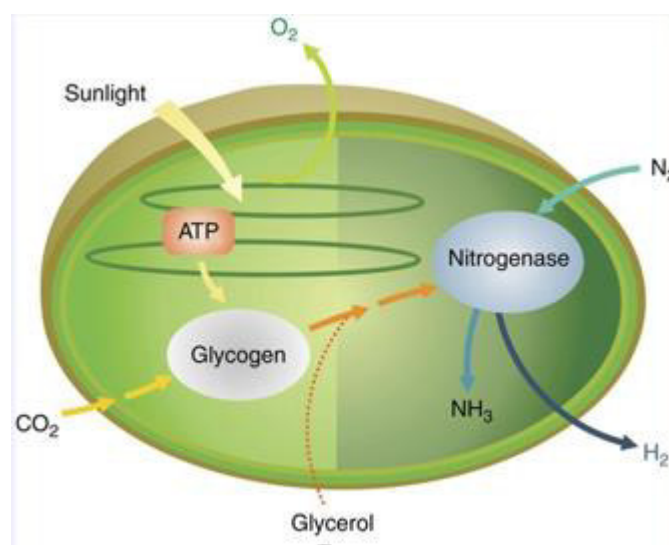


Figure 1. Photobiological production of H<sub>2</sub> in cyanobacteria cells

A Nitrogenase enzyme consists of two parts: one is dinitrogenase and the other is dinitrogenase reductase. Dinitrogenase is a heterotetramer, breaks apart the atoms of nitrogen. Dinitrogenase reductase is a homodimer and plays the specific role of mediating the transfer of electrons from the external electron donor to the dinitrogenase. There are three types of dinitrogenase found in Nitrogenase, which vary depending on the metal content. Type one contains molybdenum, type two contains vanadium, and type three has contains iron [14].

Hydrogen photo evolution catalyzed by nitrogenases or hydrogenases can only function under anaerobic conditions due to their extreme sensitivity to oxygen. Since oxygen is a byproduct of photosynthesis, organisms have developed the following spatial and temporal strategies to protect the enzyme from inactivation by oxygen. Those heterocyst-containing cyanobacteria physically separate oxygen evolution from nitrogenase activity by segregating oxygenic photosynthetic activity in vegetative cells and nitrogenase activity in heterocystis with reduced oxygen-permeability and non-heterocystous cyanobacteria separate oxygen-evolution from nitrogenase activity by performing these functions during light and dark periods respectively [15].

### Conclusion

The biological production of molecular hydrogen through photosynthesis, which has several advantages over other methods for producing H<sub>2</sub>, is increasingly attracting researchers as a possible alternative to modern non-renewable energy technologies. This technology can be put into practice if you choose the right path for the efficient use of sunlight by phototrophic microorganisms that can potentially turn solar energy into hydrogen energy. The future of such technologies depends on such scientific achievements as the search for active strains with the required characteristics and the selection of appropriate strategies for improving their strains for the photobiological production of hydrogen. Cyanobacteria attract more attention from researchers for hydrogen production. Among species of cyanobacteria, special attention is paid to filament cyanobacteria, which use the enzyme nitrogenase to produce hydrogen under conditions of nitrogen deficiency. These advantages of heterocystous cyanobacteria make them the only organisms capable of releasing hydrogen in the presence of molecular oxygen in the air.

### References

- 1 Bolatkhan K, Kossalbayev B.D., B.K. Zayadan, Tomo T., Veziroglu T.N., Allakhverdiev S.I. (2019) Hydrogen production from phototrophic microorganisms: Reality and perspectives // International Journal of Hydrogen Energy Volume 44, Issue 12, 1 March. P. 5799-5811
- 2 Hannon, M., Gimpel, J., Tran, M., Rasala, B., & Mayfield, S. (2010). Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels*, 1(5), 763–784. <https://doi.org/10.4155/bfs.10.44>
- 3 Tamagnini, P., Axelsson, R., Lindberg, P., Oxelfelt, F., Wünschiers, R., & Lindblad, P. (2002). Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 66(1), 1–20. <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.1.1-20.2002>
- 4 Antal TK, Lindblad P. Production of H<sub>2</sub> by sulphur-deprived cells of the unicellular cyanobacteria *Gloeocapsaalpicola* and *Synechocystis* sp. PCC 6803 during dark incubation with methane or at various extracellular pH. *J Appl Microbiol* 2005;98:114–20.
- 5 Cheng J, Xia A, Song W, Su H, Zhou J, Cen K. Comparison between heterofermentation and autofermentation in hydrogen production from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* wet biomass. *Int J Hydrogen Energy* 2012;37:6536–44.
- 6 Thomas J, Timourian H, Ward RL. Hydrogen production by *Anabaena cylindrica*: effects of varying ammonium and ferric ions, pH, and light. *Appl Environ Microbiol* 1978;35:704–10.
- 7 Skizim NJ, Ananyev GM, Krishnan A, Dismukes GC. Metabolic pathways for photobiological hydrogen production by nitrogenase- and hydrogenase-containing unicellular cyanobacteria *Cyanothece*. *J Biological Chemistry* 2011;287:2777–86.
- 8 Taikhao S, Incharoensakdi A, Phunpruch S. Dark fermentative hydrogen production by the unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* grown in seawater. *J Appl Phycol* 2015;27:187–96.
- 9 Khetkorn W, Rastogi R, Incharoensakdi A, Lindblad P, Madamwar D, Pandey A, Larroche C. Microalgal hydrogen production – A review. *Bioresour Technol* 2017;243:1194–206.
- 10 Kumar, K., Mella-Herrera, R. A., & Golden, J. W. (2010). Cyanobacterial heterocysts. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(4), a000315. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000315>
- 11 Oh Y-K, Raj SM, Jung GY, Park S. Metabolic engineering of microorganisms for biohydrogen production. *Bioresour Technol* 2011;102:8357–67.
- 12 Benemann JR, Weare NM. Nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica*. Hydrogen-supported nitrogenase activity. *Arch Mikrobiol* 1974;101:401–8.
- 13 Nagarajan D, Lee D-J, Kondo A, Chang J-S. Recent insights into biohydrogen production by microalgae – from biophotolysis to dark fermentation. *Bioresour Technol* 2017;227:373–87.
- 14 Show KY, Yan YG, Lee D-J. Chapter 16 – biohydrogen production: status and perspectives. *Biohydrogen* 2019;391–411.
- 15 Dutta, Debajyoti & De, Debojyoti & Chaudhuri, Surabhi & Bhattacharya, Sanjoy. (2005). Hydrogen production by Cyanobacteria. *Microbial cell factories*. 4. 36. 10.1186/1475-2859-4-36.

UDC 574.56

## PRINCIPLES AND APPLICATION OF PLANT MICROBIAL FUEL CELLS

G.Zh.Nagmetova<sup>1</sup>, V.V. Martynenko<sup>1</sup>, A.A. Kurmanbayev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>RSE «National Center for Biotechnology» SCMESRK, Nur-Sultan city, Kazakhstan,  
e-mail: [gulden30-04@mail.ru](mailto:gulden30-04@mail.ru)

**Abstract.** Plant microbial fuel cell (PMFC) is a system that uses vital active microorganisms to convert organic matter into bioelectricity. As a result of the loss of organic compounds by plant roots, i.e., rhizodeposition, the generation of electricity by electrogenic active bacteria in the microbial fuel cell (MFC) occurs. PMFC is a pure renewable device due to the process of

photosynthesis. This review examines the basic principles of the PMFC system in the process of bioelectricity formation, as well as the possibilities of their application in various fields of activity.

**Keywords:** *plant microbial fuel cell, bioelectricity, rhizodeposition, organic matter, electrogenic bacteria.*

### **Introduction**

One of the main tasks of modern society is to solve the problem of providing the constantly growing human population with the required amount of energy. According to research by experts, the reserves of fossil fuel and energy resources are rapidly decreasing, in connection with this, the need has increased to develop new methods of generating energy based on renewable sources. Since the 1950s, the world's population has grown from 2.5 billion to 6 billion. In 2000, over 11 years another million was added, and by 2050 the population of the Earth is expected to grow to 9 billion people. Accordingly, in the 50s, carbon dioxide emissions were 7 Gt/year, in the 80s – 20 Gt/year. Currently – 30 Gt/year. If the current trend continues, by 2050, emissions may amount to 40 Gt/year of carbon dioxide, which may lead to an increase in the temperature on the planet to +4 °C or more. The consequences of such an increase in temperature are catastrophic [1].

Microbial fuel cells, in which bacteria are able to generate electricity during their vital activity, can be considered as a promising source of alternative electricity [2]. One of the relatively new areas is PMFC technology, which allows the production of sustainable electricity from the symbiosis of plants and microorganisms, which is superior to the previous MFC system, the output power of which was 0.42 mW [3], while PMTE – 466.9 mW [4] from wastewater. PMFC is of particular interest in connection with the possibility of utilizing organic waste with the simultaneous generation of electricity. Waste from agriculture and wood processing industry, food, etc. can provide energy to consumers in settlements, agricultural and industrial zones through small processing plants. This will solve the problem of excessive accumulation of organic waste and reduce the dependence of consumers on traditional energy sources [5]. A wide range of bacteria can be used in PMFC, but preference is given to anaerobes, since approximately 90% of their metabolism are catabolic processes, therefore, the increase in biomass is minimal compared to aerobic processes [6].

The aim of this review is to familiarize with the fundamental aspects inherent in PMFC in the interaction of living plants and microorganisms and the mechanism of transformation and utilization of the substrate, and the transfer of electrons for the production of bioelectricity.

### **Principles of PMFC**

The work of the PMFC is carried out due to a natural phenomenon -photosynthesis. Solar energy is converted in plant leaves into organic matter, which is then removed through the root system into the surrounding water. During their life, microorganisms living in this environment convert them into carbon dioxide, and in the process electrons and protons are released. The power generating element in a PMFC system usually consists of three parts: an aerobic cathode chamber (cathode), an ion-selective membrane (baffle), and an anaerobic anode chamber (anode). Free electrons arrive at the anode, which are then transferred to the cathode through an external conductor. To it, at the same time, positively charged hydrogen ions are supplied through the membrane. Electric current is generated as a result of the formation of water after combining oxygen and hydrogen in the cathode chamber (Fig. 1) [2, 7].

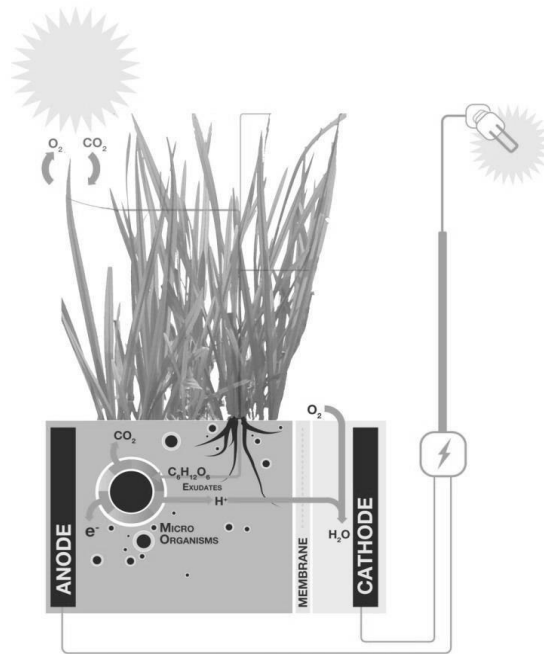


Figure 1. Schematic illustration PMFC [2]

D. Strik et al. confirmed in 2008 the principle of operation of the PMFC by planting sugar cane (*Glyceria maxima*) on the anode and achieved a maximum output power of  $67 \text{ mW/m}^2$  [2]. In order to improve the PMFC current density and power, three factors need to be controlled: the rate of photosynthesis, the amount of rhizodeposition, and energy recovery in the MFC [8].

#### Application of PMFC

PMFC has attracted a lot of attention in recent years as it has many applications in the formation of bioelectricity (Fig. 2).

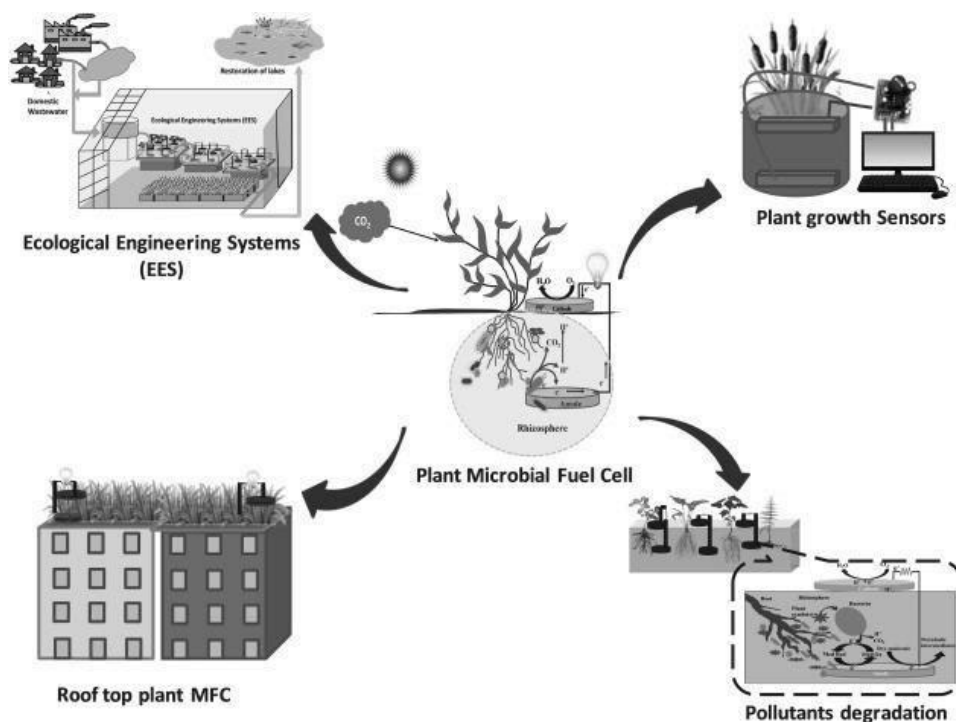


Fig.2 Application of PMFCs and their flow systems, [9]



One of the actual applications is biological wastewater treatment, including heavy metals. Some studies have shown that Chromium (Cr VI) was removed with a 98% efficiency in PMFC [10]. Also, a COD removal of 86.7% was achieved with successful color and turbidity reduction in a miniature ecological system that used PMFC principles [11]. Although the electrical capacity of the PMFC system is low, it shows promising opportunities for wastewater treatment. The maximum power of 1.6 mW/km<sup>2</sup> can be achieved when using the PMFC system in a natural environment [8]. Green roof gardens are widely used to reduce the negative impact of dense urban development [12]. Moreover, on-site power generation and reduction of greenhouse gas emissions from rice paddies have already been demonstrated to combat climate change and improve environmental quality [13]. Also another area for application of the PMFC system could be the use in a greenhouse system of hydroponics or a pond system. In addition, soil restoration, biosensors and plant disease control are potential applications for PMFC technology.

In 2010 Timmers et al. showed long-term results using *Spartina anglica* in the PMFC system. The maximum production capacity is 100 mW/m<sup>2</sup> [14].

Currently, the Plant-e company, created in 2013 at the Department of Environmental Technology at the University of Wageningen (created by Dutch scientists David Streck and Marjole in Helder), is working on optimal production of energy from ordinary marsh grass. Such an installation allows you to generate electricity from an area of 1 m<sup>2</sup>, planted with marsh plants with a power of 0.4 W. The technology does not harm the environment and the plants themselves, which continue to grow. At present, this is still a low-power installation, but in the near future the developers are planning to create more powerful systems that allow to receive from 100 m<sup>2</sup> up to 2800 kW/h per year, that is, from one square meter to 3.2 W [15].

### Conclusion

Fossil fuels are a limited resource, so constant consumption over time will eventually lead to complete depletion. Among all approaches to bioelectricity production, PMFC has been identified as a promising alternative to traditional energy sources. PMFCs make it possible to generate energy in an independent and environmentally friendly way with minimal or zero pollutant emissions and for as long as energy carriers will be produced from renewable sources, sun and biomass. The advantages of fuel cells over other types of devices that produce energy are as follows: higher efficiency; no moving parts and, as a result, no sound pollution; no emissions of environmentally polluting gases such as SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, etc. In contrast to the advantages, there is only one drawback of fuel cells, and that is their high cost, but this problem is solved by applying new technologies, as well as mass production of these fuel cells. Thus, a holistic understanding of the relationships between plants and microorganisms that unravels the world of the rhizosphere is key to the effective operation of PMFC technology. For this, the application of the biosystem principle in PMFC research seems to be possible in the near future. Resistant and vigorous plants with higher rhizodegradation and efficient engineering for a higher electron transfer rate will ultimately lead to the practical application of this system.

### References

- 1 BP, statistics review of World Energy 2015, June 2015, <http://www.bp.com/cn/global/corporate/about/energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html>.
- 2 Strik DPBTB, Hamelers HVM, Snel JFH, Buisman CJN. Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell // Int J Energy Res. – 2008. – Vol.32. – P. 870-876.
- 3 Yagofarova A.Y., Kurmanbayev A.A., Berdimuratova K.T., Akhmetollaev I.A. Wastewater as a source of energy in microbial fuel cells // Eurasian journal of applied biotechnology. – 2017. – № 1. – P. 58-63.

- 4 Yingmu Wang, Ziyuan Lin, Xiaosuan Su et al. Cost-effective domestic wastewater treatment and bioenergy recovery in an immobilized microalgal-based photoautotrophic microbial fuel cell (PMFC) // *Chemical Engineering Journal*. – 2019. – Vol. 372. – P. 956-965.
- 5 P.Close, V.N. Pandey, R.L.Shinde, S.P. Deopurkar, S.A. Kale, D. Patil. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery // *Appl. Energy*. – 2016. – Vol. 168. – P. 706-723.
- 6 Rebeca González-Cabaleiro, Juan M. Lema, and Jorge Rodríguez, Metabolic Energy-Based Modelling Explains Product Yielding in Anaerobic Mixed Culture Fermentations // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10(5). – e0126739 p.
- 7 Felix TettehKabuteya, QingliangZhaoa, LiangliangWeia, Jing Dinga, Philip Antwic, Frank KoblahQuashiea, WeiyeWanga. An overview of plant microbial fuel cells (PMFCs): Configurations and applications // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2019. – Vol. 110. – P. 402–414.
- 8 Strik, D.P.B.T.B., Timmers, R.A., Helder, M., Steinbusch, K.J.J., Hamelers, H.V.M., Buisman, C.J.N. Microbial solar cells: applying photosynthetic and electrochemically active organisms // *Trends in Biotechnology*. – 2011. – Vol. 29. – P. 41–49.
- 9 P. Chiranjeevi, Dileep Kumar Yeruva, A. Kiran Kumar, S. Venkata Mohan, SunitaVarjani. Plant-Microbial Fuel Cell Technology Microbial Electrochemical Technology Sustainable Platform for Fuels // *Chemicals and Remediation Biomass, Biofuels and Biochemicals*. – 2019. – P. 549-564.
- 10 Habibul N, Hu Y, Wang YK, Chen W, Yu HQ, Sheng GP. Bioelectrochemical chromium (VI) removal in plant-microbial fuel cells // *Environ Sci Technol*. – 2016. – Vol. 50. – P. 3882-3889.
- 11 Venkata Mohan S, Mohanakrishna G, Chiranjeevi P. Sustainable power generation from floating macrophytes based ecological microenvironment through embedded fuel cells along with simultaneous wastewater treatment // *Bioresour Technol*. – 2011. – Vol. 102. – P. 7036-7042.
- 12 Scinner CJ. Urban density, meteorology and rooftops // *Urban Policy Res*. – 2006. – Vol. 24. – P. 355-67.
- 13 Arends J.B., Speeckaert J., Blondeel E., De Vrieze J., Boeckx P., et al. Greenhouse gas emissions from rice microcosms amended with a plant microbial fuel cell // *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2014. – P. 98. – Vol. 3205-3217.
- 14 Timmers, R.A. et al. Long-term performance of a plant microbial fuel cell with *Spartina anglica* // *Appl. Microbiol. Biotechnol*. – 2010. – Vol. 86. – P. 973– 981.
- 15 Plant microbial fuel cell. – URL: <https://verticalsad.ru/mirovoj-opyt/rastitelno-mikrobnj-toplivnyj-element.html> (date of the applic. 2021-01-15).

UDK 663.252.61: 631.95

## PROSPECTS FOR THE USE OF WASTE FROM INDUSTRIAL PROCESSING OF GRAPES AS A SOURCE OF POLYPHENOL-RESVERATROL

A.A. Saparbekova<sup>1</sup>, A.S. Latif<sup>1</sup>, Z.R. Achmedova<sup>2</sup>, G.O. Kantureyeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>M. Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, Kazakhstan,

<sup>2</sup>National Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent,  
e-mail: [almira.saparbekova@mail.ru](mailto:almira.saparbekova@mail.ru)

**Annotation.** The waste (grape pomace) of the main production contains a significant amount of biologically active substances, including resveratrol. In all the conducted comparative experiments on the extraction of resveratrol from grape pomace by the *Aspergillus awamori* strain F-RKM 0719 and the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, an increase in the amount of isolated resveratrol was observed when using the enzyme preparation. Moreover, the highest efficiency was shown by the multienzyme complex of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 for the *Cabernet Sauvignon* variety, the yield of resveratrol was 699.62 mg/dm<sup>3</sup>, (the optimal extraction temperature

was chosen at 35<sup>0</sup>C, with a duration of 30 minutes). Also, the prospect of using grape peel extract containing resveratrol in the formulation of fermented vegetable juice to enhance the antioxidant effect was shown. Thus, the results of this work will partially solve the problems of ecology in the processing of wine waste.

**Keywords:** waste, grape pomace, resveratrol, *Aspergillus awamori* strain F-RKM 071, Pectinol F-RKM 0719, fermented juice

One of the most acute problems of modern science and practice is the disposal and processing of organic industrial, household and agricultural waste, which is alien to the biosphere and does not fit into the natural biological cycle, which leads to air, water, soil pollution and negatively affects human health.

This trend is particularly relevant in industries engaged in the processing of agricultural raw materials, since in this case, production waste is of biological origin and can be the starting material for the production of feed, food products, and in some cases, functional compounds [1].

In Kazakhstan, about 85 thousand tons of grapes are produced with an area of 14 thousand hectares, of which the technical direction (80%) is 68 thousand tons. Pomace (combs, skins and seeds) in the amount of about 10 thousand tons, formed during the industrial processing of grapes for juices and wine, is practically not used due to the lack of technologies for their processing. An analysis of the activities of many enterprises of Kazakhstan in winemaking and juice production (JSC "Bacchus", JSC "Kaplanbek", JSC "Issyk", JSC "Turgen", JSC "Gold Product", LLP "Kazakhstan", LLP "Bio Tau Zher", etc.) shows that almost none of them uses by-products (grape pomace) of the main production [2].

At the same time, in such countries as Italy, France, and Spain, special enterprises have been built for the processing of secondary resources in order to obtain high-quality and expensive products (grape oil, tartaric acid, eno dye, biologically active additives, cosmetics).

Thus, the study of existing methods of waste processing should allow us to identify the most effective ways of using secondary resources. Special attention should be paid to the production of high-tech products, including dietary supplements [3].

During the processing of grapes into wort, fermentation of wort, processing and distillation of wine materials, waste is formed, which includes valuable components, including resveratrol. Grape skins (*Vitis vinifera* L.) contain 50 to 100 µg of resveratrol per gram of dry weight, seeds and stems - about 6 µg/g - [4].

Resveratrol is a natural biologically active substance from the group of polyphenols, isolated from dark grapes and grape seeds, which has proven anti-carcinogenic, hepatoprotective and anti-inflammatory properties [5].

We used a previously isolated and studied promising strain of *A. awamori*, which produces a wide range of enzymes and does not have pathogenic properties for warm-blooded animals and humans. The resulting enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 is essentially already a multi-enzyme complex [6].

One of the most common technical grape varieties is Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Saperavi and Matrassa, which are used for the preparation of red table wines.

The total content of resveratrol in the extract was determined using a spectrophotometer with the construction of standard curves, the analyses were carried out in three repetitions, the calculation was carried out taking into account the error of ±0.05.

Extraction experiments were carried out in three combinations using culture *Aspergillus awamori* F-RKM 0719, the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 and the control one using only chemical reagents.

Experiments have shown: with the Cabernet Sauvignon variety, the amount of resveratrol is maximum and increased from 392.66 control sample, when using the strain *Aspergillus awamori* F-

RKM 0719 - 497,66, and when resveratrol was extracted with the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, 699.62 mg/dm<sup>3</sup> was extracted.

Graph 1 shows that the highest efficiency was shown by the multienzyme complex of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, (the optimal extraction temperature was chosen at 35 °C, with a duration of 30 minutes).

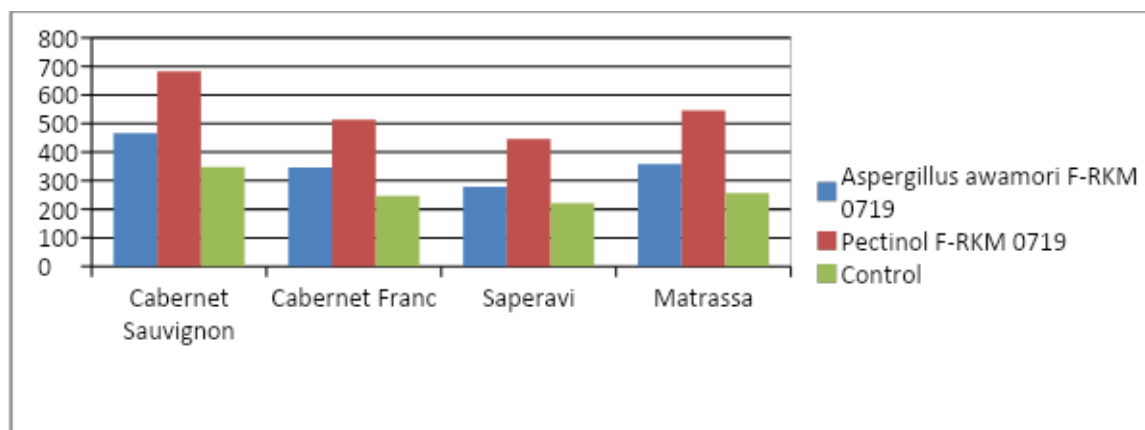


Figure 1. Effect of the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719 produced by the *Aspergillus awamori* strain F-RKM 0719 on the extraction of resveratrol (mg / dm<sup>3</sup>)

Further, to increase the biological value due to the additional introduction of an antioxidant that is found in the skin of red grapes, an extract from the skin of red grapes is added to the canned juice containing watermelon juice, pomegranate juice with the following content of components (Table 1).

Table 1. Content of components

Raw materials	weight. %
Watermelon juice	80,0-82,0
Pomegranate juice	10,0-12,0
The extract from the peel of red grapes	2,65-2,87

As a result of the selection work, the strains of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from grapes, sugar sargo and pomegranate were selected, which were obtained by multiple replanting of individual yeast colonies on dense nutrient media. identified as *Saccharomyces cerevisiae* Al-06, *Saccharomyces cerevisiae* Gl -8 and *Saccharomyces cerevisiae* Az- 12.

The most promising were *Saccharomyces cerevisiae* Az-12, which are able to ferment fruit juices relatively quickly, and the leading factor was the high quality of the products: organoleptic characteristics, a natural fruit smell, without the appearance of turbidity and a pleasant slightly sweet, slightly sour taste. *Saccharomyces cerevisiae* Az-12 is resistant to gentamicin, oxacillin, cefazolin, amoxiclav, tetracycline, norfloxacin, vancomycin, erythromycin, cefotaxime, ciprofloxacin, cefuroxime, metronidazole, ketonazole, amphotericin. They exhibit pronounced antagonistic properties in relation to *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

Table 2. Chemical indicators and taste evaluation of mixed fruit juices and fermented on the experimental yeast

Fruit juice	The yeast race	Volume fraction of alcohol, %	Sugar weight, g/dm <sup>3</sup>	Mass titr. acids, g/dm <sup>3</sup>	Mass of volatile acids, g/dm <sup>3</sup>	Taste evaluation
Water-melon juice	<i>S. cerevisiae</i> AI-06	1,5	4,2	5,01	0,45	6
	<i>S. cerevisiae</i> GI-8	2,3	3,1	5,64	0,51	7
	<i>S. cerevisiae</i> –Az- 12	1,6	3,9	5,21	0,54	8
Pomegranate juice	<i>S. cerevisiae</i> AI-06	2,6	5,8	6,93	0,72	8
	<i>S. cerevisiae</i> GI-8	3,7	4.1	7,82	0,75	8
	<i>S. cerevisiae</i> –Az- 12	2,8	5,3	6,15	0,78	9
Mixed juice (table1)	<i>S. cerevisiae</i> AI-06	2,3	4,9	5,92	0,55	8
	<i>S. cerevisiae</i> GI-8	3,1	2,7	8,43	0,59	9
	<i>S. cerevisiae</i> –Az- 12	1,8	4,5	5,15	0,64	10

Resveratrol, which is part of the grape peel, has a positive effect on the cells of the human body. However, being in a bound state, the use of it by the body is significantly reduced. In this connection, there is a need to use enzyme preparations to maximize the extraction of resveratrol from the skin of grapes.

It was experimentally proved that the amount of resveratrol from grape pomace of the Cabernet Sauvignon variety was also maximum, and increased from 392.66 mg/dm<sup>3</sup> control sample, when using the *Aspergillus awamori* strain F-RKM 0719-497.66 mg/dm<sup>3</sup>, and when extracting resveratrol with the enzyme preparation Pectinol F-RKM 0719, 699.62 mg/dm<sup>3</sup> was extracted. The effectiveness of further use of grape peel extract in combined fermented juice has been proven. Based on watermelon and pomegranate with the addition of 2.65-2.87 % red grape peel extract.

### *References*

- 1 Alimkulov S. O., Almatova I. B. Waste-a global environmental problem. Modern methods of waste disposal//Molodoy uchenyy.-2014.-№ 21(80).- P. 66-70.
- 2 Alimkulov Zh. By-products of processing of fruit and berry raw materials in mixed feed for sheep // Kombikorma.-2020.-№5.- P.34-35.
- 3 Giashvili M. D., Tanashchuk T. N. Prospects for the use of grape pomace as a source of biologically active additives // Vinemaking and viticulture. - 2005. - №6. - P. 37-38, 56.
- 4 Baur J.A., Sinclair D.A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence // Nat. Rev. Drug Discov.-2006.- №5.- C. 493–506.
- 5 Karomatov I. D., Abdulkhakov I. U. Biologically active substance of plant origin resveratrol-therapeutic properties // Biology and integrative therapy. – 2018.- № 3. – P. 178-198.
- 6 Saparbekova A.A., Dzhakasheva M.A., Kedelbayev B.Sh., Ashir A.K. Multi-enzyme composition for winemaking: author's certificate No. 100682, dated 28.12.2016.

УДК 663.1; 602.3: 579.8; 606:622.75

**ПОИСК И ВЫДЕЛЕНИЕ АКСЕНИЧНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИЗ  
РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ  
ДЛЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Болатхан К., Усербаева А.А., Заядан Б.К., Нурабаева Д. Б., Какимова А.Б.  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан  
e-mail: bkenzhegul23@gmail.com

**Аннотация.** Фототрофные микроорганизмы продуцируют широкий спектр метаболитов, таких как белки, углеводы, каротиноиды, витамины и липиды, которые могут использоваться в качестве источников пищи для людей и животных, в фармацевтических и косметических производствах, а также в качестве источника энергии. Одной из актуальной проблемой современной цивилизации является потребность в использовании возобновляемых источников энергии, в том числе биомассы. Одним из наиболее перспективных видов биомассы являются микроводоросли. Микроводоросли являются наиболее эффективными биологическими продуцентами жирных кислот, а также универсальным возобновляемым источником биомассы для получения биодизельного топлива. В статье приведены результаты поиска и выделения продуктивных штаммов микроводорослей - продуцентов липидов, из различных водных экосистем, а также охарактеризованы их культурально-морфологические свойства. В работе были выделены 16 видов и разновидностей микроводорослей из проб воды горячего источника Уйгурского района, 70 видов и разновидностей микроводорослей из проб воды озера Балхаш, 89 - из озере Алаколь и 14 – с почв рисовых полей сел Акжол, Келинтобе и Абдигашар. В результате многократных пересевов удалось получить 10 аксеничных культур микроводорослей идентифицированные по культурально-морфологическим и физиологическим признакам как *Chlorella vulgaris* U1, *Chlorella* sp. U2, *Scenedesmus obliquus* U5, *Gleocapsa* sp. U6, *Parachlorella kessleri* B2, *Ankistrodesmus falkatus* B5, *Dunaliella salina* B10, *Monoraphidium arcuatum* A7, *Navicula* sp. A5 и *Chlamydomonas reinhardtii* A8 и альгологически чистая культура микроводоросли определенная как *Botryococcus* sp. Zh-5. Выделенные штаммы микроводоросли добавлены в коллекцию фототрофных микроорганизмов КазНУ им. аль-Фараби для дальнейших исследований их физиолого-биохимических свойств с целью определения потенциальных продуцентов биодизельного топлива.

**Ключевые слова:** микроводоросли, выделение, аксеничные штаммы, биодизель

**Введение**

В настоящее время существует необходимость разработки новых экологически чистых энергетических технологий, которые, в свою очередь, могут заменить не возобновляемые энергоресурсы по мере их истощения или удорожания [1]. Биодизель представляет собой экологически чистое, альтернативное топливо, которое может быть произведено из возобновляемых источников. Биодизель прост в использовании, биоразлагаемый, экологически чистый и практически не содержит серы и ароматических соединений. Физические свойства биодизеля очень схожи со свойствами, присущими нефтяному дизельному топливу. [2]. Фотосинтезирующие организмы, включая высшие растения, микроводоросли и цианобактерии, играют важную роль в поглощении солнечной энергии и превращении ее в энергию химических связей. Биодизель можно получить из растений и водорослей из-за их масел. Ряд технологических преимуществ культивирования микроводорослей позволяет им успешно конкурировать с наземными, в том числе продовольственными культурами, по использованию площади, водных ресурсов, удобрений. Доказана возможность выращивания микроводорослей на неплодородных землях, водных

акваториях, а также возможность адаптации штаммов водорослей к росту на соленых водах и применения их в качестве источников биогенных элементов сточных вод. Выращивание и энергетическое использование микроводорослей в отличие от традиционных сельскохозяйственных культур напрямую не усугубляет продовольственной проблемы. Выращивание водорослей может дать нам дешевую еду, дешевую энергию и биотопливо. В США и Европе для производства биодизеля первоначально использовались в качестве сырья только соевые бобы и рапсовое масло. Однако, потенциальный рынок спроса на биодизель лимитируется доступностью сырья, непригодного для иных промышленных целей. Именно поэтому в настоящее время значительно возрос интерес к липидам, содержащимся в микроводорослях, как к наиболее перспективному и рентабельному источнику сырья для производства биодизеля [3-6].

#### **Материалы и методы исследования**

В качестве объектов были выбраны водные образцы из Алматинской и Восточно-Казахстанской областей: термальные источники Уйгурского района, озер Балхаш и Алаколь, рисовые поля Жанакорганского района Кызылординской области. Определение видового состава микроводорослей в пробах из различных водных экосистем проводили по методике Сиренко [7] с использованием определителей [8, 9]. Для выделения альгологически чистых культур из накопительных применяли микробиологические методы. Пересевы делали на жидкие и агаризованные твердые среды Тамия, ТАР и HSM в колбах и на чашках Петри, которые помещали на свет. Для некоторых изолятов использовались антибиотики ампициллин и хлорамфеникол в концентрации от 2000 ед/мл с помощью которых удалось получить бактериологически чистые штаммы микроводорослей [10-12].

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Отбор образцов из водных источников Алматинской, Восточно-Казахстанской и Кызылординской областей проводили в период с мая по июль 2020 года. В результате анализа определенных видов микроводорослей источника «Кара дала», нами выявлено наличие 16 видов и разновидностей микроводорослей. Часто встречаются представители семейств *Chlorella*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*. Согласно полученным результатам во всех пробах воды отобранных в районе з.Торангалык озеро Балхаш по видовому составу доминируют зеленые микроводоросли и цианобактерии, однако по частоте встречаемости доминируют диатомовые микроводоросли. Определено 29 видов микроводорослей. В пробах воды отобранных в районе залива Байтал число определенных видовых таксонов микроводорослей возросло до 41. В озере Алаколь также как и в озере Балхаш, основную биомассу составили микроводоросли отдела *Chlorophyta* (39,32 %). В озере Алаколь всего обнаружено 89 видов водорослей. С почвы рисовых полей сел Акжол, Келинтобе, Абдигаппар Жанакорганского района Кызылординской области было отобрано 33 образца воды и выявлено 14 видов микроводорослей. Из выявленных видов микробов 12% - зеленые, 18% - диатомовые, 50%-сине - зеленые и 20% - эвгленовые водоросли. Выделена культура микроводоросли определенная как *Botryosoccus* sp. Следующим этапом работы было выделение чистых культур микроводорослей из отобранных проб воды горячего источника. Описанным образом из 19 накопительных культур, методом многократных пересевов и использования антибиотиков были получены 10 аксеничных культур микроводорослей отличавшихся стабильным ростом в лабораторных условиях. Из проб воды горячего источника Уйгурского района были выделены 4 альгологические и бактериологически чистые культуры *Chlorella vulgaris* U1, *Chlorella* sp. U2, *Scenedesmus obliquus* U5 и *Gleocapsa* sp. U6 (рисунок 1).

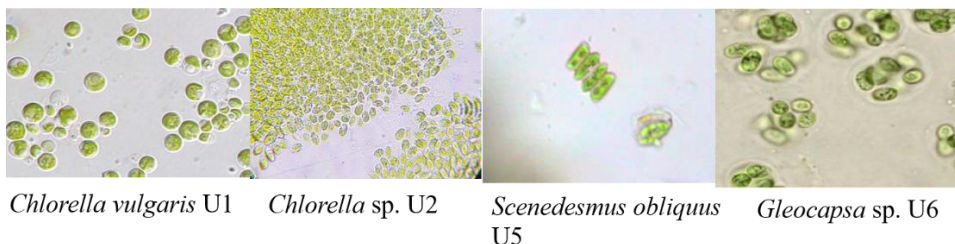


Рисунок 1. Морфология клеток выделенных культур микроводорослей из горячего источника в районе базы «Кара дала» (Уйгурский р/н)

*Chlorella vulgaris* U1: клетки шаровидные, оболочка тонкая, хроматофор широко поясковидный, просматриваются вакуоли. Ядро в живых клетках не видны. Диаметр клеток 1,7-6,7 мкм, иногда до 15, диаметр материнской клетки с дочерными до 28 мкм. *Chlorella* sp. U2: клетки шаровидные, оболочка тонкая, хроматофор широко поясковидный, просматриваются вакуоли. Ядро в живых клетках не видны. Диаметр клеток 2-5 мкм, иногда до 10, диаметр материнской клетки с дочерными до 20 мкм. Питательная среда - 04. *Scenedesmus obliquus* U5: клетки пластинчатые, 4-8-клеточные, коккоидной формы. Овальные клетки соединяются своими боковыми поверхностями, образуя одно- или двурядные плоские или несколько загнутые пластинки. В клетке виден массивный чашевидный хроматофор с одним пиреноидом. *Gleocapsa* sp. U6: клетки шаровидные или эллипсоидные, собраны в микроскопические колонии. Колонии слизистые, шаровидные, иногда расплываются. Из озера Балхаш были выделены 3 культуры - *Parachlorella kessleri* B2, *Ankistrodesmus falkatus* B5 и *Dunaliella salina* B10 (рисунок 9) и из озера Алаколь были выделены *Monoraphidium arcuatum* A7, *Navicula* sp. A5 и *Chlamydomonas reinhardtii* A8 (рисунок 2).

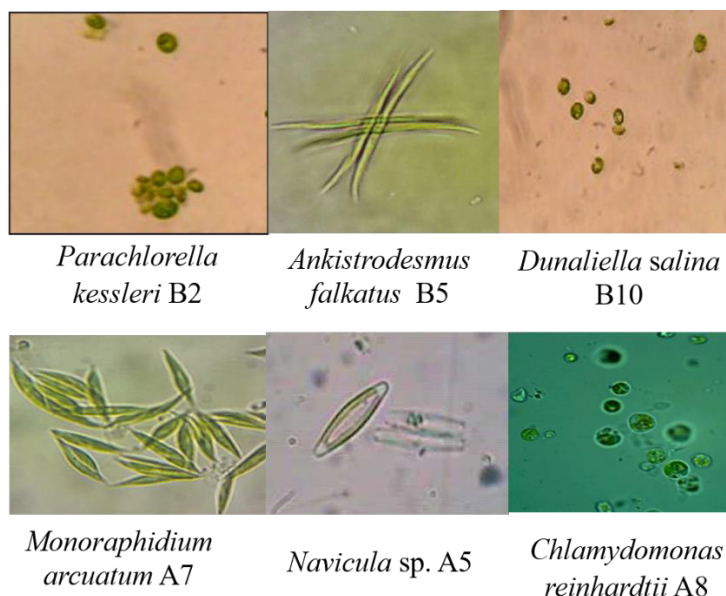


Рисунок 2. Морфология клеток выделенных культур микроводорослей из озер Балхаш и Алаколя.

*Parachlorella kessleri* B2: неподвижные клетки шаровидной формы, диаметром 3-8 мкм. Жгутики отсутствуют. В хлоропластах имеется зеленый пигмент – хлорофилл. *Ankistrodesmus falkatus* B5: клетки по форме веретеновидные, состоящие из ценобных форм. Ценобии в свою очередь состоят из 2, 4, клеток, которые соприкасаются между собой боковыми сторонами и расположены в один ряд (иногда, в 2 или 3 ряда) и не имеют шипов. Каждая клетка имеет



эллипсоидную форму. Средний размер клеток составляет  $2,5-4 \mu$  в ширину и  $4,5-5 \mu$  в длину. Поверхность клетки гладкая без выростов, покрыта гладкой оболочкой. Имеют периферический хромотофор с одним переноидом. *Dunaliella salina* B10: форма клеток радиально-симметричная (эллипсоидная, яйцевидная или обратнойцевидная, грушевидная, цилиндрическая, веретеновидная или шаровидная, на поперечных срезах по всей длине клетки круглая). Клетки подвижны благодаря наличию одной пары жгутиков. Отсутствует прочная клеточная оболочка. Размер клеток варьирует от 10 до 18 мкм в длину. *Monoraphidium arcuatum* A7: клетки дуговидные, изогнутые, длина 35-40 мкм, ширина 2,2-3,1 мкм, расстояние между концами клетки составляло 3.4-16.5 мкм. Хромотофор расположен равномерно и заметны вакуоли. *Navicula* sp. A5: Клетки одиночные, в виде лодочки. Большинство видов в препарате видны со створки, однако несколько видов, сильно сплюснутые с боков, видны с пояса. Хлоропласты числом два, прижатые к пояску, по одному с каждой стороны продольной плоскости, каждый содержит продолговатый стержневидный пиреноид. Длина клетки 7-10 мкм, ширина 1-3 мкм. *Chlamydomonas reinhardtii* A8: Клетки шаровидные, активно передвигаются с помощью вращательного движения двух жгутиков. Каждая клетка содержит две вакуоли, один крупный хлоропласт с пиреноидом в его нижней части и красное пигментное тельце. Хлоропласт представлен в виде чаши, занимающей большую часть клетки. Диаметр клетки 8-10 мкм. Также с рисовых полей Жанакорганского района Кызылординской области были получены пробы почв, из которых была выделена микроводоросль рода *Botryococcus* sp. Zh-5 (рисунок 3).



Рисунок 3. Морфология клеток *Botryococcus* sp. Zh-5 выделенного из рисовых полей Жанакорганского района Кызылординской области

*Botryococcus* sp. Zh-5: Клетки удлиненные, слегка обратнойцевидные до почти цилиндрических, на апикальной конце обычно округленно-усеченные, длиной 11,5-12-13,8 мкм, шириной 5,75-6-6,9 мкм. Хлоропласт пристенный, апикальный или латеральный, обычно с неправильными краями. Пиреноид не различается.

Таким образом, в результате работы получены 10 аксеничных культур микроводорослей идентифицированные по культурально-морфологическим и физиологическим признакам как *Chlorella vulgaris* U1, *Chlorella* sp. U2, *Scenedesmus obliquus* U5, *Gleocapsa* sp. U6, *Parachlorella kessleri* B2, *Ankistrodesmus falkatus* B5, *Dunaliella salina* B10, *Monoraphidium arcuatum* A7, *Navicula* sp. A5 и *Chlamydomonas reinhardtii* A8 и 1 альгологически чистая культура микроводоросли определенная как *Botryococcus* sp. Zh-5. Выделенные штаммы микроводоросли добавлены в коллекцию фототрофных микроорганизмов КазНУ им. аль-Фараби для дальнейших исследований их физиолого-биохимических свойств с целью определения потенциальных продуцентов биодизельного топлива.

#### Литература

1 Voloshin R.A., Rodionova M.V., Zharmukhamedov S.K., Veziroglu T.N., Allakhverdiev S.I. Biofuel production from plant and algal biomass // Int. J. Hydrogen Energy. - 2016. - Vol. 41. - P. 17257–17273.

2 Miao X.; Wu Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil // Bioresour. Technol. – 2006. - Vol. 97. – P.841–846.

3 Larcum A.W.D. Limitations and prospects of natural photosynthesis for bioenergy production // Curr. Opin. Biotechnol. – 2010. – Vol. 21. - P. 271-276.

4 Khan M.I., Shin J.H., Kim J.D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products // Microbial cell factories. - 2018. - Vol.17. – N 1. - P.36.

5 Rodionova M.V., Poudyal R.S., Tiwari I., Voloshin R.A., Zharmukhamedov S.K., Nam H.G., Zayadan B.K., Bruce B.D., Hou H.J.M., Allakhverdiev S.I. Biofuel production: challenges and opportunities // Int. J. Hydrogen Energy. - 2017. - Vol. 42. - P.845-861.

6 Georgiann D.R., Mayfield S.P. Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels // Nature - 2012. - Vol. 488. - P.329-335.

7 Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф., Лукина Л.Ф. и др. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наукова думка, 1975. – 247 с.

8 Музафаров А.М., Эргашев А.Э., Халилова С.Х. Определитель сине-зеленых водорослей Средней Азии // Ташкент. Фан. - 1988. - Т. 2. - С. 406-815.

9 Царенко П.М. Краткий определитель хлорококковых водорослей Укр. ССР. – Киев: Наукова думка, 1990. – 208 с.

10 Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К. Каталог коллекции культур микроводорослей и цианобактерий. - А.: Абзал-Ай, 2017. – 135 с.

11 Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие. - Уфа: БГПУ, 2008. – 152 с.

12 Орел. Н.М. Биохимия липидов: практикум для студентов биол. фак. спец. «Биология», специализации «Биохимия». – Минск: БГУ, 2007. – 35 с.

УДК 663.1; 602.3: 579.8; 606:622.75

## ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОТОПЛИВА НА ОСНОВЕ ФОТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Заядан Б.К. \*, Лось Д.А.\*\*, Садвакасова А.К. \*, Болатхан К. \*, Сарсекеева Ф.К. \*

\*Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

\*\*Институт физиологии растений имени К.А.Тимирязова РАН, Москва, РФ

e-mail: [zbolatkhan@gmail.com](mailto:zbolatkhan@gmail.com)

**Ключевые слова:** Биодизель, продуценты липидов, микроводоросли, цианобактерии, жирнокислотный состав, биоремедиация сточных вод

В последнее время весь мир сталкивается с двумя основными проблемами: нехваткой пресной воды и энергетическим кризисом. Фототрофные микроорганизмы являются перспективным объектом для производства биотоплива главным образом из-за высокой скорости размножения, высокой фотосинтетической способности и низких требований к источникам питания. Культивирование цианобактерий на сточных водах может стать перспективным подходом для производства биотоплива [1]. Эта интеграция является экономически выгодной и экологически чистой технологией для устойчивого производства биотоплива на основе микроводорослей и цианобактерий, поскольку огромное количество воды и питательных веществ в ней могут быть вторично использованы ими для роста [2]. В связи с этим, фототрофные микроорганизмы имеют двойное применение - производство биомассы для устойчивого производства биотоплива и биоремедиация сточных вод.

Цель данной работы – получение и совершенствование активных штаммов фототрофных микроорганизмов - продуцентов липидов, с оптимизацией условий их массового культивирования для дальнейшего получения на их основе жидкого биодизельного топлива.

Выделение аксеничных культур микроводорослей, их культивирование и хранение осуществляли по стандартным альгологическим методам. Экстракцию липидов из предобработанной биомассы осуществляли по методу Фольча и определение суммарных липидов проводили калориметрически по методу Агатовой Л.И. [3]. Полученные метиловые эфиры жирных кислот анализировали при помощи газо-жидкостного хроматографа масс-спектрометрическим детектором Agilent 5975S.

С целью определения потенциальных продуцентов биодизельного топлива были исследованы коллекционные штаммы цианобактерий и микроводорослей, основу которых составляют штаммы, выделенные из Большого Алматинского озера, озера Балхаш, Алаколь и из горячих источников Алматинской области Республики Казахстан в период с 2017 по 2020 годы, а также различные мутантные штаммы микроводорослей, полученные методами индуцированного мутагенеза. Новые выделенные штаммы микроводорослей идентифицированы как *Parachlorella kessleri* K-6, *Chlorella sorokiniana*, *Monoraphidium* sp. ZBD-06, *Dunaliella salina*- B-1, *Parachlorella kessleri*-BZB, *Chlorella vulgari* K-5, *Chlamydomonas* sp, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* C-2 и др.

Из зеленых микроводорослей, большой интерес представляют мутантные штаммы *Chlorella pyrenoidosa* C-2m1 и *Chlorella pyrenoidosa* C-2m2, полученные на основе коллекционного штамма *Chlorella pyrenoidosa* C-2 методами мутагенеза и селекции и характеризующиеся высокой продуктивностью и накоплением липидов.

Существующие способы получения биодизельного топлива из возобновляемых источников энергии предполагают предварительное выделение липидной фракции из биомассы сухим отжимом либо различными видами экстракции [4].

Липидный состав фотосинтезирующих клеток в высокой степени отражает их функциональную активность и весьма чувствителен к изменению условий роста культуры. Содержание и состав липидов тилакоидных мембран, посредством липид-белковых взаимодействий, обуславливают физико-химические свойства биомембран, оптимизируя функционирование пигмент-белковых комплексов, входящих в состав фотосистем. Метаболизм липидов играет важную регуляторную роль в адаптации растительных клеток к стрессу [5].

Поскольку выход биодизельного топлива в результате переэтерификации жирных кислот незначительный, задачей следующего этапа работы было проведение массового культивирования штаммов микроводорослей *P. kessleri* DZP-5 и *Chlorella pyrenoidosa* C-2m2 в лабораторных условиях (рис. 1).

Культивирование активных штаммов производили в биореакторе, при температуре 27-28°C и непрерывном освещении в 6000 люкс. На основе ранее полученных результатов для культивирования штамма нами была выбрана среда TAP, с десятикратным сниженным содержанием  $\text{NH}_4^+$  (0,75 мМ).



Рисунок 1. Культивирование активных штаммов в лабораторных условиях

Начальная оптическая плотность культуры исследуемых штаммов в биореакторе составляла 0,1. В процессе опыта число клеток штаммов микроводоросли увеличивалось и достигло максимума к 11 суткам культивирования.

Нами было определено, что сухой вес биомассы штамма *Parachlorella kessleri* DZP-5 составляет в среднем 5 г/л, а у штамма *Chlorella pyrenoidosa* C-2m2 - 6 г/л. Исследуемые штаммы были выращены в лабораторном биореакторе на 10 л., в результате было получено 50 г сухой биомассы штамма *P. kessleri* DZP-5 и 60 г - штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2.

Для получения биодизельного топлива из биомассы опытных штаммов, выделяли липиды с предобработкой кипячением при 100°C в течение 10 мин.

В результате было экстрагировано 14 г липидов из 50 г биомассы штамма *Parachlorella kessleri* DZP-5, и 19,2 г из 60 г биомассы штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2 (рис.2).

В результате массового культивирования активных штаммов в среде ТАР с десятикратно сниженным содержанием  $\text{NH}_4^+$ , нами было экстрагировано 14 г липидов из 50 г сухой биомассы штамма *P. kessleri* DZP-5 и 19,2 г липидов из 60 г сухой биомассы штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2.

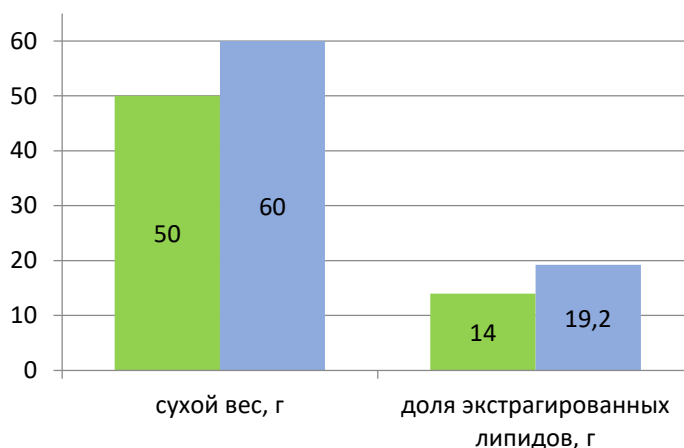


Рисунок 2. Соотношение экстрагированных липидов к биомассе штаммов *P. kessleri* DZP-5 и *Ch. pyrenoidosa* C-2m2

Установлено, что общая доля липидов в биомассе штамма *P. kessleri* DZP-5 составляет 28%, а у штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2 - 32% что делает возможным использовать данные штаммы для дальнейшего получения биодизельного топлива.

Технология использования микроводорослей в качестве топливного сырья занимает одно из центральных мест среди подходов современной альтернативной энергетики. Исследования показали, что микроводоросли превосходят по потенциальному энергетическому выходу типичных представителей растительных масленичных культур: пальмовое масло – в 8-25 раз, и рапсовое масло – в 40-120 раз.

В рамках данной работы была исследована возможность использования способа получения биодизельного топлива из хлороформно-метанольных экстрактов липидов из биомассы штаммов *Parachlorella kessleri* DZP-5 и *Chlorella pyrenoidosa* C-2m2.

При непрерывном культивировании штаммов *P. kessleri* DZP-5 и *Ch. pyrenoidosa* C-2m2 в среде ТАР с десятикратно сниженным содержанием  $\text{NH}_4^+$ , ежедневно мы получали 6 л суспензии. Биомассу получали стандартным методом из 6 л суспензии нами было получено 30 г сухого веса штамма *P. kessleri* DZP-5, и а 40 г штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2. Далее нами были экстрагированы липиды, из 30 г сухого веса штамма *P. kessleri* DZP-5 было выделено 6 г липидов, а из 40 г штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2- 10 г.

Экстрагированные липиды вначале нагревали при нормальном давлении до температуры 60°C. Затем в него добавляли метанол в присутствии щелочного катализатора, в качестве катализатора использовали гидроксид калия. Смесь определенное время перемешивали и дали отстояться. После отстаивания смесь расслаивается, образуя в верхнем слое метиловый эфир биодизель, затем слой мыла и на дне остается глицерин. После отделения глицериновой фазы метиловые эфиры промываются водой для удаления остатков глицерина, метанола и других водорастворимых соединений в несколько этапов. Затем биодизель осушают и фильтруют. Ниже представлена схема получения биодизеля из активных штаммов (рис. 3).

В результате опыта выход конечного продукта достигает 12,8 % от сухой биомассы (30г) штамма *P. kessleri* DZP-5 и составляет 4,8 мл метилового эфира (биодизеля) полученного в лабораторных условиях. Из 40 г сухой биомассы штамма *Ch. pyrenoidosa* C-2m2 нами получено 8,5 мл метилового эфира, что составляет 21,25% от биомассы.

На основе полученных результатов, активные штаммы *P. kessleri* DZP-5 и *Ch. pyrenoidosa* C-2m2 могут быть рекомендованы для дальнейшего масштабного получения биодизельного топлива.

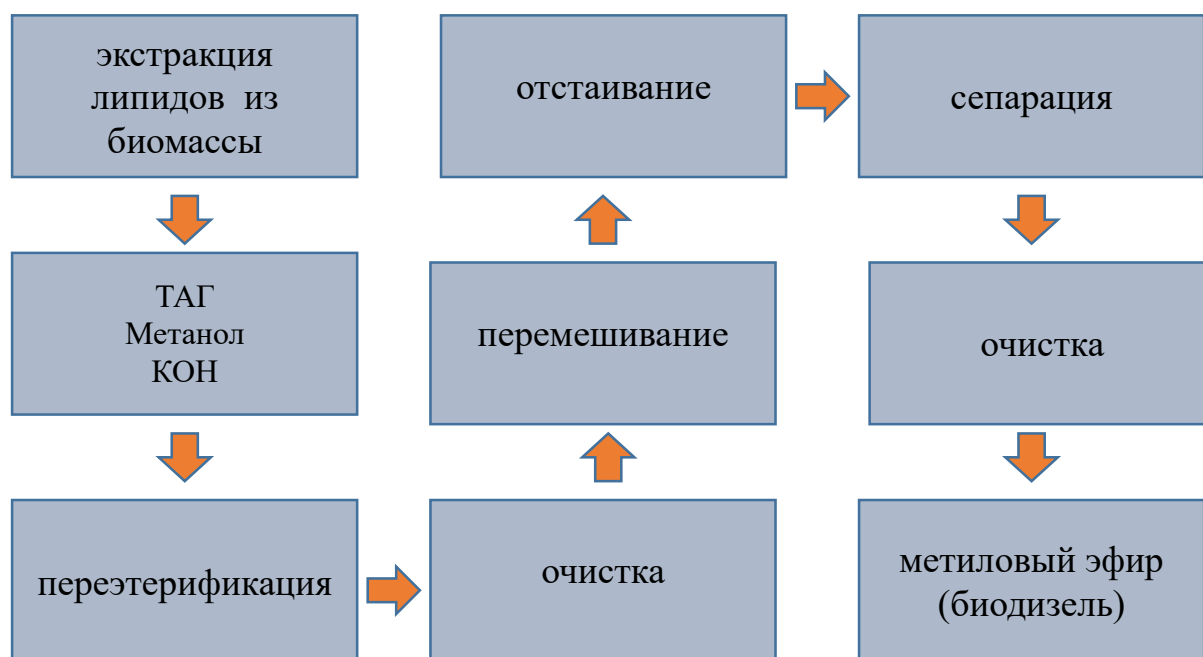


Рисунок 3. Схема получения биодизеля из биомассы фототрофных микроорганизмов

Среди исследованных цианобактерий, установлено, что коллекционные штаммы *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200, *Cyanobacterium aponium* IPPAS B-1201 и штамм, выделенный из рисовых полей провинции Баглан, Афганистан *Anabaena variabilis* R-I-5 обладают наиболее высокими показателями по скорости роста, флуоресценции, выходу биомассы и суммарному количеству липидов. Среди них, штамм одноклеточной цианобактерии *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200 депонирован не только в «Республиканской Коллекции микроорганизмов» Комитета науки Министерства образования и науки РК, а также в Коллекции микроводорослей Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии Наук под регистрационным номером IPPAS B-1200. Получен патент Республики Казахстан на полезную модель «Штамм *Cyanobacterium* sp. IPPAS-1200 в качестве сырья для производства биотоплива».

С целью оптимизации условий массового культивирования штаммов-продуцентов липидов *Cyanobacterium* sp. IPPAS-1200, *Cyanobacterium aponium* IPPAS B-1201, была проведена серия экспериментов по выращиванию данных культур на сточной воде из водоканала после биологической очистки. Полученные результаты свидетельствуют о высоком ремедиационном потенциале у исследованных штаммов цианобактерий. Так, установлено, что после выращивания культур цианобактерий на сточной воде, удалось понизить концентрацию органических загрязнений и физико-химических показателей в среднем на 94,3%. При этом максимальный показатель очистки исследуемой сточной воды составил 98%. Анализ жирнокислотного состава, полученной таким образом биомассы показал, что коллекционные штаммы *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200 и *Cyanobacterium aponium* IPPAS B-1201 характеризовались высокой продуктивностью по накоплению жирных кислот, данные показатели составили 59,9 мг и 45,8 мг на 1 г сухого веса соответственно.

Полученные результаты позволяют рекомендовать штаммы *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200 и *Cyanobacterium aponium* IPPAS B-1201 как в биоремедиации коммунально-бытовых сточных вод, так и для получения биомассы для производства биодизельного топлива.

*Литература*

- 1 Rodionova MV, Poudyal RS, Tiwari I, Voloshin RA, Zharmukhamedov SK, Nam HG, Zayadan BK, Bruce BD, Hou HJM, Allakhverdiev SI. Biofuel production: Challenges and opportunities // *Int J Hydrogen Energy*. – 2017. – Vol.42. – P.8450–61.
- 2 Sarsekeyeva F., Zayadan B.K., Usserbaeva A., **Bedbenov V.S., Sinetova M.A., Los D.A.** Cyanofuels – biofuels from cyanobacteria: reality and perspectives // *Photosynth. Res.* -2015. –Vol. 125. - P. 329-340.
- 3 Folch et al., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J BiolChem.* - 1957.-Vol. 226.-P. 497.
- 4 Lee J.-Y., Yoo C., Jun S.-Y., Ahn C.-Y., Oh H.-M. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae // *Bioresource Technology Journal*. – 2010. – Vol.101 (1). - P. 75—77.
- 5 Gopinath S.M, Ashalatha, Niruba J., Meghana R. Isolation, Molecular Identification and Comparative Lipid Profiling of Microalgae and Cyanobacteria // *International Journal of Science and Research.* . – 2014. – Vol. 3(7). – P. 2319-7064.

УДК 574.56

**БУМАЖНЫЕ МИКРОБНЫЕ ТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КАК НАИБОЛЕЕ  
ДЕШЕВЫЕ МОДЕЛИ ИХ ДИЗАЙНА**

В.В. Мартыненко, Р.Н. Урвачева, Г.Ж. Нагметова, А.А. Курманбаев  
РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, г. Нур-Султан, Казахстан  
e-mail: [vitalya2497@gmail.com](mailto:vitalya2497@gmail.com)

**Аннотация.** На данный момент одной из наиболее перспективных технологий зеленой энергетики является переработка органических отходов в микробном топливном элементе (МТЭ). Принцип работы всех МТЭ заключается в том, что микроорганизмы окисляют органический субстрат, превращая биохимическую энергию, запасенную в молекулах субстрата, в электрическую. Для создания высокоэффективных МТЭ, необходимо вести исследования в направлении совершенствования установок по всем параметрам, прежде всего техническим и биологическим. В данной статье рассматриваются конструкции бумажных МТЭ как наиболее дешевой альтернатива традиционным МТЭ.

**Ключевые слова:** бумажные микробные топливные элементы, энергия, мощность, электрод, бактерии

**Введение**

Микробные топливные элементы представляют собой потенциальное решение энергетических потребностей за счет возобновляемых и экологически чистых источников энергии. МТЭ могут использоваться для очистки сточных вод предприятий и даже целых городов, а также для частичной переработки твердых бытовых отходов. Данный способ экономичен и выгоден, а также предпочтителен с точки зрения экологии. Однако, у классической модели МТЭ есть существенный недостаток - используемая в оригинальной модели протонпроницаемая мембрана (ППМ) «Nafion 117» является очень дорогостоящим материалом. Соответственно, перед учёными-исследователями стоит задача найти более дешую и доступную альтернативу данной мембране [1].

Одним из интересных направлений в развитии технологии МТЭ является их изготовление с использованием в качестве материала для мембраны обычной бумаги. Бумажная модель имеет ряд преимуществ по сравнению с другими конструкциями. Во-первых, бумага в разы дешевле, во-вторых использовать можно любой вид бумаги (бумажные

салфетки, пергамент, газету, бумагу для рисования и т.д.) - эффект будет одинаков. Кроме того, из бумаги можно сделать как корпус, так и мембрану с проводником. С точки зрения количества вырабатываемой энергии бумажные МТЭ не уступают по своей эффективности обычным общеизвестным моделям.

*Различные дизайны бумажных МТЭ*

Одними из первых, кому удалось достичь прогресса в данном направлении, стали исследователи из Университета Рочестера. Они опытным путем показали, что у бумажного электрода плотность тока почти в два раза превышает данное значение по сравнению с моделью с углеродистым войлоком. Ими была создана модель в виде слоистого «сэндвича» из бумаги, углеродной пасты, проводящего полимера и пленки бактерий (рис.1). Средний выход энергии у этого МТЭ составлял  $2,4 \text{ A/m}^2$  по сравнению с  $0,94 \text{ A/m}^2$  войлочной модели [2].

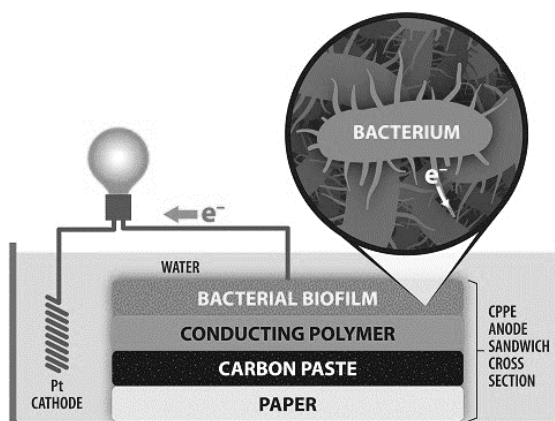


Рисунок 1. Схематическое изображение бумажного МТЭ в виде слоистого «сэндвича», [2]

Команда ученых Государственного университета Нью-Йорка показала, что бумажная анодная и катодная камеры позволяют быстро адсорбировать бактерии. Эта адсорбция способствует прикреплению бактериальных клеток к электроду, где процесс бактериального дыхания позволяет переносить электроны из окружающей жидкости на электрод. Исследователи собрали экспериментальную установку, бумага в которой дважды складывалась для последовательного подключения четырех МТЭ (рис.2). В результате углеродные анодные и катодные электроды альтернативно соединялись друг с другом, а все батареи были подключены последовательно. Были получены следующие результаты: напряжение равнялось  $1,6 \text{ V}$ , а сила тока  $4 \text{ мкА}$  [3].

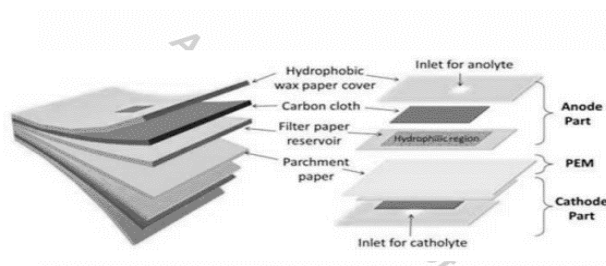
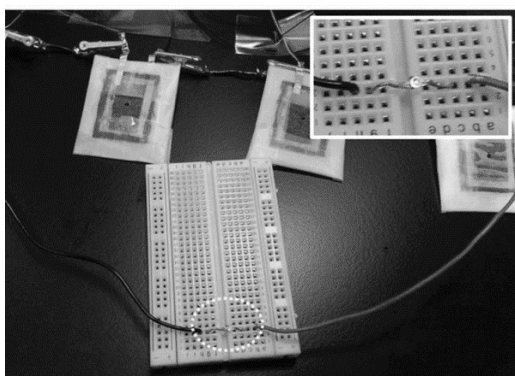


Рисунок 2. Схема многослойного бумажного МТЭ, [3]



Существуют также модели бумажного МТЭ в виде оригами, не уступающие по своим техническим характеристикам обычным моделям (рис.3).

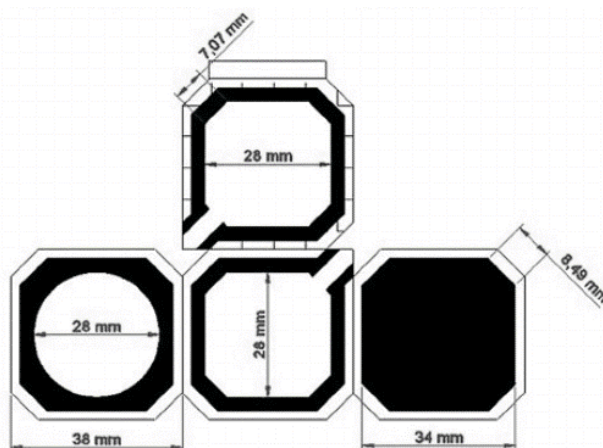


Рисунок 3. Изготовление модели МТЭ в виде оригами, [4]

В издании «Journal of Materials Chemistry A» говорится о двух МТЭ: один из биodeградируемых полипропиленовых соломинок, а второй - тетраэдрический бумажный МТЭ. В обеих моделях используется проводящий синтетический латекс и бумага. В первой конструкции в качестве мембраны была выбрана газетная бумага. Анодная камера была заполнена раствором 1% триптона и 0,5% дрожжевого экстракта. Вторая модель – треугольный тетраэдр из бумаги, обработанный снаружи синтетическим латексом для того, чтобы не пропускать жидкость. К данной категории МТЭ также можно отнести кубическую модель, сложенную из бумаги без каких-либо насосов или труб. Пиковая мощность такого устройства доходит до 168 В/м<sup>2</sup> [4].

Исследователи из Университета штата Айова главным преимуществом бумажных МТЭ считают то, что они могут функционировать при контакте с рабочими жидкостями без необходимости в дополнительном оборудовании. Использование слоистой хроматографической бумаги с нанесенным на нее восковым рисунком обеспечивает приток жидкости в МТЭ, а также ограничивает её текучесть при доставке в камеру, действуя подобно трубкам в обычном микробном топливном элементе. Данный микробный топливный элемент способен создавать ток, который будет поддерживаться на протяжении определенного периода времени. Максимальная сила тока, полученная из этого элемента, составила 0,7 мкА. Это говорит о том, что возможно создание целого набора МТЭ на бумажной основе, которые смогут обеспечить функционирование небольших схем при использовании последовательно или параллельно [5].

Кара Брен и её команда использовали бумажный электрод с покрытием из углеродистой пасты в качестве анода в биоэлектрохимической ячейке с электрогенной бактерией *Shewanella oneidensis*. Изготавливается данный МТЭ простым нанесением углеродной пасты на бумагу с последующим добавлением полианилина, который повышает проводимость электродов [6, 7].

Команды Seung и Nguyen изготовили недорогостоящий, одноразовый, бумажный МТЭ без использования химической обработки. Анод и катод были изготовлены путем нанесения частиц графита на бумагу карандашом (штрихом). Гидрофобную пергаментную бумагу использовали в качестве протонообменной мембраны, чтобы пропускать только ионы H<sup>+</sup>. Данный МТЭ генерирует ток в течение 10 сек после добавления бактериальных клеток. Один такой МТЭ генерировал максимальный потенциал в 300 мВ и максимальный ток силой 11 мкА в течение 100 мин после однократного добавления культуры *Shewanella oneidensis* [8, 9].

В лаборатории экологической биотехнологии Национального центра биотехнологии КН МОН РК был проведен сравнительный анализ эффективности нескольких видов дизайна МТЭ с заменой протонпроницаемой мембраны (ППМ) Nafion мембранами из бумаги в МТЭ в виде бумажного куба и полипропиленовых соломинок по [4], в МТЭ из керамики в виде глиняного горшка согласно [11] и почвенный МТЭ с мембраной из агара. Конструкции использованных МТЭ представлены на рисунках 4 и 5.

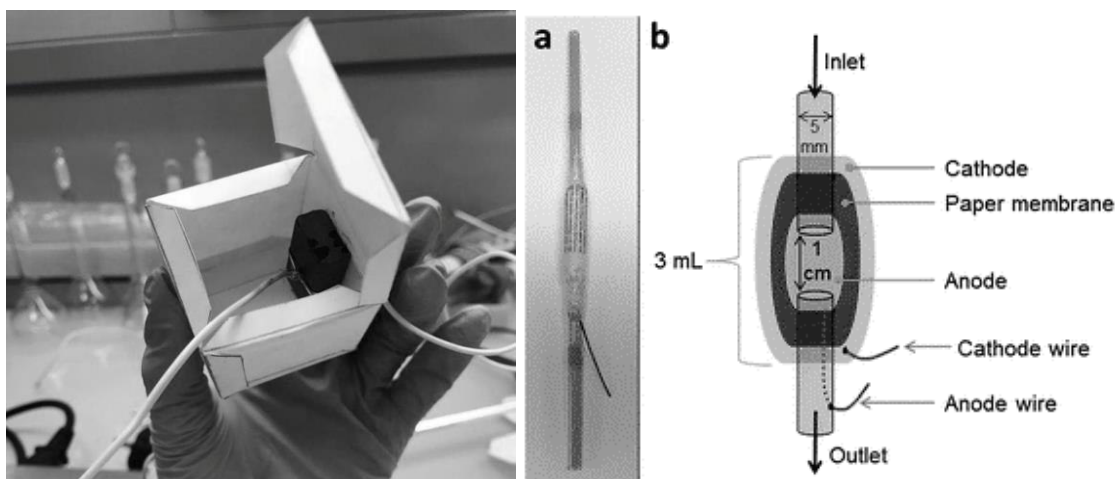


Рисунок 4. Конструкция бумажного МТЭ, [4]



А- глиняный, бумажный (куб и соломинки), Б – батарея почвенных МТЭ  
Рисунок 5. Дизайн микробных топливных элементов

Электродами послужили угольные пластины от электроприборов, рабочей жидкостью – илы городских сточных вод г. Нур-Султан. Замеры силы тока и напряжения выполнялись с помощью микровольтметра.

В течение 10 дней изучалась способность генерировать ток разными МТЭ. Бумажный МТЭ генерировал ток с максимальным напряжением 64,9 мВ на 3 сутки. Пик напряжения для МТЭ из биodeградируемых полипропиленовых соломинок составил 21,5 мВ на 4 сутки наблюдений. Наиболее значимые результаты показали глиняные и почвенные МТЭ. Максимальный показатель напряжения для глиняного МТЭ составил 351,9 мВ на 10 сутки эксперимента, а для почвенного МТЭ этот показатель был равен 401,8 мВ на 8 сутки. В МТЭ с бумажными ППМ ток генерировался раньше, чем в других МТЭ с ППМ из керамики и агара, но его величина была меньше.

Учитывая дешевизну бумаги как ППМ микробные топливные элементы на ее основе имеют большие перспективы для прикладного применения.

*Литература*

- 1 Волченко Н.Н., Самков А.А., Шеуджен Т.М., Шермет В.В. // Исследование твердофазных микробных топливных элементов в периодическом режиме подачи субстрата // Матер.конфер. «Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства», Краснодар. – 2015. – С. 395-398.
- 2 Building a better microbial fuel cell – using paper. – URL: <https://www.rochester.edu/newscenter/building-a-better-microbial-fuel-cell-using-paper/> (дата обращения 2021-01-24).
- 3 Fraiwan A., Choi S. Bacteria-Powered Battery on Paper // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2014. – Vol.16. – P. 26288-26293.
- 4 Winfield J., Chambers L.D., Rossiter J., Greenman J., Ieropoulos I. Urine-activated origami microbial fuel cells to signal proof of life // J. Mater. Chem. A. – 2015. – Vol.3. – P. 7058–7065.
- 5 Wagner L.T., Hashemi N., Hashemi N.N. A Compact Versatile Microbial Fuel Cell From Paper // Proceedings of the ASME 2013 11th Fuel Cell Science, Engineering and Technology Conference. – Minneapolis. – 2013.
- 6 Kracke, F.; Vassilev, I.; Krömer, J. O. Microbial Electron Transport and Energy Conservation – The Foundation for Optimizing Bioelectrochemical Systems. // Front. Microbiol. – 2015. – Vol. 6. – 575 p.
- 7 Tonle I.K.; Ngameni E.; Tchieno F.M., Walcarius A. Organoclay-modified Electrodes: Preparation, Characterization and Recent Electroanalytical Applications. // J. Solid State Electrochem. – 2015. –Vol. 19. – P.1949-1973.
- 8 Seung Ho Lee, Ju Yeon Ban, Chung-Hun Oh, Hun-Kuk Park, Samjin Choi. A solvent-free microbial-activated air cathode battery paper platform made with pencil-traced graphite electrodes // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 28588.
- 9 Nguyen T. H., Fraiwan A., Choi S. Paper-based batteries: A review // Biosens. Bioelectron. – 2014. – Vol. 54. – P. 640–649.
- 10 Chatterjee P., Ghangrekar M.M. Design of Clayware Separator-Electrode Assembly for Treatment of Wastewater in Microbial Fuel Cells // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2014. – Vol.173. – P.378–390

<b>ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ.....</b>	<b>3</b>
<i>Жубанова А.А.</i> ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УТИЛИЗАЦИИ НИЗКОСОРТНЫХ УГЛЕЙ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ АГРО-МЕЛИОРАНТОВ.....	4
<i>Mansurov Z.A.</i> VALORIZATION OF BIOMASS WASTE INTO HIGH EFFICIENT MATERIALS FOR AIR PURIFICATION.....	7
<i>Саданов А.К.</i> ДОСТИЖЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИИ В ПРАКТИКЕ СЕГОДНЯ.....	14
<i>Жамбакин К.Ж.</i> ПРОБЛЕМА МОНИТОРИНГА РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР В КАЗАХСТАНЕ.....	18
<i>Bissenbaev A.K.</i> ENGINEERING INDUSTRIAL <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> STRAIN FOR DIRECT FERMENTATION OF CELLULOSE TO BIOETHANOL.....	22
<i>Канаев А.Т.</i> ИЗУЧЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ <i>A.FERROOXIDANS</i> И <i>A.CALDULANS</i> ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОМ ПЕРЕСЕВЕ.....	26
<i>Нуржанова А.А.</i> ОПТИМИЗАЦИЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ НА ОСНОВЕ КОНСТРУИРОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ.....	30
<i>Абилев С.К.</i> ВЫЯВЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНЫХ <i>LUX</i> - БИОСЕНСОРОВ.....	36
<i>Annett Mikolasch</i> DIVERSITY AND DEGRADATIVE CAPABILITIES OF BACTERIA AND FUNGI ISOLATED FROM OIL-CONTAMINATED AND HYDROCARBON-POLLUTED SOILS IN KAZAKHSTAN...	39
<i>Ilya Digel</i> SOM- AND PARAFAC- ASSISTED FLUORESCENCE SPECTROSCOPY AS A TOOL FOR UNSUPERVISED ENVIRONMENTAL MONITORING.....	41
<i>Dilfuza Egamberdieva</i> THE PLANT MICROBIOME IN SUSTAINABLE AGRICULTURE.....	45
<i>Маторин Д.Н.</i> ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ <i>ANKISTRODESMUS SP. B-11</i> .....	46
<i>Huma Balouch</i> REALIZING THE POTENTIAL OF MICROALGAE FROM A MOLECULAR GENETICIST'S APPROACH.....	49
<b>СЕКЦИЯ №1. АСПЕКТЫ, ИННОВАЦИИ И ДОСТИЖЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....</b>	<b>55</b>
<i>Amutova F., Konuspayeva G., Ahatzhanova A., Nurseitova M., Jurjanz S., Delannoy M.</i> ASSESSMENT OF TRANSFER OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS FROM SOIL TO AGRICULTURAL ANIMALS.....	56
<i>Bitmanov Ye., Abzhalelov A., Boluspaeva L Kasymova A.</i> ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN THE SOILS OF THE AKMOLA REGION AND THE IMPACT ON LIVING ORGANISMS.....	58
<i>Inelova Z.A., Boros E., Zaparina Ye. G., Aitzhan M.U., Zayadan B.K.</i> ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF UNIQUE SODA-SALINE ECOSYSTEMS IN KAZAKHSTAN.....	61
<i>Kozhakhmetova M.H., Akimbekov N.S., Berillo D.A.</i>	

UTILIZATION OF WHEY AS A SOURCE OF ETHANOL TO MINIMIZE ITS ADVERSE ENVIRONMENTAL IMPACT.....	64
<i>Mammadov R., Atay M. Ö., Ardil B., Ceylan O., Turan M., Alper M.</i>	
DETERMINATION OF TOXICITY OF <i>INULA VISCOSA</i> AND <i>INULA GRAVEOLENS</i> USING BRINE SHRIMP LETHALITY ASSAY.....	68
<i>Meiramkulova K.S., Tanybayeva Zh.A., Kydyrbekova Assel</i>	
APPLICATION OF LIGHT-EMITTING DIODES (LEDS) FOR POSTHARVEST TREATMENT OF FRESH PERISHABLE AGRO PRODUCE.....	71
<i>Mynbayeva B.N., Dossan A., Baimolda D., Zhanbekov Kh.</i>	
RESEARCH OF PHYTOTOXICITY OF ALMATY CITY SOILS.....	77
<i>Omirkbekova N.Zh., Zhussupova A.I., Zhunusbayeva Zh.K., Yertaeva B.A.</i>	
OBTAINING BRACHYPODIUM DISTACHYON PLANTS IN VITRO.....	81
<i>Tan H., Ulusoy H., Peker H.</i>	
USE OF MEDICINAL AROMATIC PLANT EXTRACT IN WOOD AND SOME PHYSICAL CHANGE FEATURES.....	84
<i>Turan M., Seçme M., Mammadov R.</i>	
ANTIOXIDANT AND BIOLARVICIDAL ACTIVITY OF <i>ARUM RUPICOLA</i> VAR. <i>VIRESCENS</i> .....	87
<i>Toktarova A.A., Ives C., Seitkan A.S.</i>	
CHALLENGES IN BIODIVERSITY CONSERVATION OF KORGALZHYN STATE NATURE RESERVE: UNSUSTAINABLE PRACTICES.....	91
<i>Seçme M., Turan M., Mammadov R.</i>	
EFFECTS OF <i>PAEONIA KESROUANENSIS</i> ON CELL PROLIFERATION AND MRNA EXPRESSIONS OF APOPTOSIS RELATED GENES IN CACO-2 COLORECTAL CARCINOMA CELLS.....	96
<i>Shakiryanova Z.M., Saparbekova A.A.</i>	
AN INNOVATIVE WAY TO USE AN EXTRACT THE VITICULTURE BY-PRODUCTS.....	99
<i>Yeszhanova G.A., Rassulbekkyzy Kh., Kuanyshbek P.S., Akimbekov N. S.</i>	
ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY OF SOIL ECOSYSTEMS CREATED WITH LOW-RANK COALS.....	103
<i>Zayadan B.K., Sandybayeva S.K., Kopecky J., Karabekova A.</i>	
ENVIRONMENTALLY FRIENDLY BIOLOGICAL PRODUCTS BASED ON BIOACTIVE COMPOUNDS FROM CYANOBACTERIA AND MICROALGAE.....	107
<i>Батесова Ф.К., Хаким А.А.</i>	
ҚАТТЫ ТҮРМЫСТЫҚ ҚАЛДЫҚТАРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУ САЛАСЫНДАҒЫ ШЕТЕЛДІК ЖӘНЕ ҚАЗАҚСТАНДЫҚ ТӘЖІРИБЕГЕ САЛЫСТЫРМАЛЫ ТАЛДАУ.....	111
<i>Батырова Г.А., Умарова Г.А., Тлегенова Ж.Ш., Құдабаева Х.И., Айтмағанбет П.Ж.</i>	
ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА НАСЕЛЕНИЯ ИНДУСТРИАЛЬНО РАЗВИТОГО РЕГИОНА.....	115
<i>Бауенова М.Ө., Садвакасова А.К., Кирбаева Д.К., Тұрғамбай С., Өндіріс Б., Мұстапаева Ж.Ө.</i>	
МИКРОБАЛДЫР ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ АУЫР МЕТАЛДАРДЫ СОРБЦИЯЛАУЫ.....	119
<i>Бектаев Р.Т., Ахметкаримова Ж.С., Календарь Р.Н.</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПАЛИНДРОМНОТАРГЕТИРОВАННОЙ ПЦР ДЛЯ ГЕНОМНОГО ФИНГЕРПРИНТИНГА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА РОАСЕАЕ.....	122
<i>Болуспаева Л.С., Битманов Е.Ж., Абжалелов А.Б.</i>	
СВИНЕЦ И ЦИНК В ПОЧВАХ ГОРОДА УСТЬ-КАМЕНОГОРСКА.....	127
<i>Бұриева Х.П., Мирзаева Г.С.</i>	
РАСПРОСТРАНЕНИЕ КОКЦИНЕЛЛИДОВ (СОСЦИНЕЛЛИДАЕ) В БИОЦЕНОЗАХ ЮЖНОЙ КАШКАДАРЬИ В РАЗЛИЧНЫХ ЛАНДШАФТАХ.....	129
<i>Верушкіна О.А., Тонких А.К., Баймурзаев Е.Н., Кодиров С.В.</i>	
ОСОБЕННОСТИ МИКРОВОДОРОСЛИ <i>DUNALIELLA SALINA</i> AR-1 ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ВОДОЁМОВ ПРИАРАЛЬЯ.....	132
<i>Джиенбеков А. К., Нурашов С. Б., Саметова Э. С., Джумаханова Г. Б., Бигалиев А. Б.</i>	
АЛАҚӨЛ КӨЛІ БАЛДЫРЛАР ТҮРЛЕРІНІҢ АЙМАҚТЫҚ КЕЗДЕСҮІНДЕГІ ЕРЕКШЕЛЕЛІКТЕРІ.....	136

*Джусупова Д.Б., Сыздыкова А.К.*

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИОРИТЕТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТЕПРОДУКТА  
ТОЛУОЛА ..... 140

*Евнеева Д.О., Касымова А.С., Абжалелов А.Б., Карымсаков А.М.*

ПРОБЛЕМЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ СБРОСА В НИХ  
СТОЧНЫХ ВОД НА ПРИМЕРЕ ОЗЕРА ТАЛДЫКОЛЬ..... 143

*Жанатаев Б.Т., Даулетқұл М.Е., Тұңғышбаева З.Б., Джумагалиева А.К.*

ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕКРЕАЦИОННЫХ НАГРУЗОК НА ЛЕСНЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ  
РОЩЫ БАУМА..... 146

*Жумабаева А.Н., Токтамыс А.Б., Толеген Г.А., Мырзахметова Б.Б., Тунгушбаева З.Б.*

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ПОЛУЧЕНИЯ СГУЩЕННОГО КУМЫСА..... 149

*Идрисова Д. Т., Тапалова А.С., Ибадуллаева С.Ж.*

МИКРООРГАНИЗМЕННЫЙ СОСТАВ ПОЧВ ПРИБЕРЕЖНОЙ ЗОНЫ  
КАСПИЙСКОГО МОРЯ..... 152

*Исаева А.У., Леска Б., Абубакирова А.А.*

ТҮЗДЫ ЖӘНЕ ӨСІМДІК ШИКІЗАТТАРЫН КОСМЕТОЛОГИЯЛЫҚ ӨНІМ АЛУДА  
ПАЙДАЛАНУ АРТЫҚШЫЛЫҚТАРЫН ЗЕРТТЕУ..... 155

*Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Тореханова М.М., Садвакасова А.К., Бауенова М.О.*

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД НА  
ОСНОВЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *CHLORELLA VULGARIS* SP BB-2..... 159

*Заядан Б.К., Бұхарбаева Ж.М., Заядан Б.К., Ерназарова Г.И.*

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ И ВОДОРΟΣЛЕЙ В  
ФИТОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД..... 163

*Каналбек Г.Қ., Богуспаев К.К., Балабекова М.Қ., Кулболдына Д.Н.*

ФИТОПАРАЗИТТІК НЕМАТОДАЛАРҒА ҚАРСЫ БИОПРЕПАРАТТАР ЖАСАУ..... 166

*Карипбаева Р.К., Канаев А.Т., Исмаилова М.Е., Хани А.Б.*

ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО  
РАЗМНОЖЕНИЯ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ХВОЙНЫХ  
РАСТЕНИЙ В КАЗАХСТАНЕ..... 170

*Кашаганова Д.У., Туякбаева А.У.*

ҚАНТ ҚЫЗЫЛШАСЫН САҚТАУ КЕЗІНДЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЗАЛАЛСЫЗДАНДЫРУ 174

*Кистаубаева А.С., Маишжан А., Савицкая И.С., Биркеланд Н.*

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ РОДА *ANOXYVASCILLUS* SP. ИЗ  
ЖАРКЕНТСКОГО ГЕОТЕРМАЛЬНОГО ГОРЯЧЕГО ИСТОЧНИКА..... 177

*Машкин П.В., Ольшанский В.М., Волков С.В., Ким Ю.А., Утешев В.К., Чан Дык Зиен, Труогн Ба Хай*

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТИОМОЧЕВИНЫ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ  
МОЛЛЮСКОВ РОДА *SINANODONTA* БАССЕЙНА РЕКИ КАЙ, ВЬЕТНАМ..... 179

*Мачигов Э.А., Абишев С.К., Игонина Е.В.*

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НИТРОРЕДУКТАЗЫ В ГЕНЕРАЦИИ СУПЕРОКСИДА С  
ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНОГО LUX-БИОСЕНСОРА..... 183

*Муталханов М.С., Альнурова А.А., Сисемали К.Р., Акильбекова А.И., Басыгараев Ж.М., Фалеев Д.Г., Богуспаев К.К.*

ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ И  
НАКОПЛЕНИЕМ КАУЧУКА В КОРНЯХ ТАУ-САГЫЗА (*SCORZONERA TAU-*  
*SAGHYZ*)..... 186

*Махамедова Б.Ж., Абишева Г.Ж.*

ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ ЯБЛОНИ СИВЕРСА..... 188

*Мухтаров А.К., Мырзабаев Б.М., Кален А.Б., Нұрқайыр Д.*

ФОСФАТМОБИЛИЗДЕУШІ МИКРОАҒЗАЛАР ШТАМДАРЫН БӨЛІП АЛУ,  
ЗЕРТТЕУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ БИОТЫҒАЙТҚЫШТАР ДАЙЫНДАУДА ҚОЛДАНУ..... 191

*Нармуратова Ж.Б., Жүнісбекова Д.Ш., Камалдинова Ұ.Р., Шакерова А., Нармуратова М.Х.*

ПРЕБИОТИКПЕН БАЙЫТЫЛҒАН СИЫР СҮТІНІҢ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОЦЕСІН ЗЕРТТЕУ.....	193
<i>Рахимбекова Ф.К., Анапияев Б.Б., Кайдарова Д.Р.</i>	
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПРИАРАЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ.....	197
<i>Садвакасова А.К., Қосалбаев Б.Д., Болатхан К., Өндіріс Б., Мұстапаева Ж.Ө., Какимова А.Б., Заядан Б.Қ.</i>	
КҮРІШ АЛҚАБЫНАН БӨЛІНГЕН ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРДЫҢ НИТРОГЕНЕЗАЛЫҚ АКТИВТІЛІГІН ЖӘНЕ ӨСУДІ ЫНТАЛАНДЫРУШЫ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ.....	198
<i>Смирнова С.В., Шапиро Т.Н., Абилев С.К.</i>	
ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ УВЕЛИЧИВАЕТ SOS-ОТВЕТ В КЛЕТКАХ ESCHERICHIA COLI, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ ФУРАЦИЛИНА.....	202
<i>Сыздық М.Р.</i>	
ТОПЫРАҚТЫҢ ТҰЗДАНУЫ ЖӘНЕ ОНЫҢ СОЯ ӨСІМДІГІНЕ ӘСЕРІ.....	205
<i>Тагаев Қ.Ж., Кожмахметов К.К., Тореханов А.А., Сапахова З.Б., Медетова Ш.А</i>	
ҚАЗАҚСТАННЫҢ ОҢТҮСТІК-ШЫҒЫСЫНДА ӨСІРІЛГЕН ТРИТИКАЛЕ СОРТТАРЫНЫҢ ДӘН САПАСЫНА ТАЛДАУ ЖАСАУ.....	208
<i>Толепбаева Н.О., Кедельбаев Б.Ш.</i>	
ӨСІМДІК БИОСТИМУЛЯТОРЛАРЫНЫҢ ЖАҢА БУЫНЫ: ТҰРАҚТЫ АУЫЛШАРУАЛЫҒЫНЫҢ НЕГІЗІ.....	212
<i>Токен А.И., Рамазанова Ж.А., Сарсекеева Ф.К., Кирбаева Д.К., Маммадов Р., Заядан Б.К.</i>	
ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОСТИМУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ.....	216
<i>Тулеуханов С.Т., Кайрат Б.К.</i>	
О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ.....	220
<i>Тулеуханов С.Т., Ольшанский В.М., Волков С.В., Машкин П.В., Вэй Сюэ</i>	
ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ БИОЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ ДЛЯ НЕПРЕРЫВНОГО АВТОМАТИЧЕСКОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕКИ ИЛИ.....	223
<i>Тунгушбаева З.Б., Орынбай Г.С.</i>	
ҚОРШАҒАН ОРТАНЫҢ ӨЗЕКТІ МӘСЕЛЕСІ - ЭНЕРГЕТИКАЛЫҚ СУСЫН ЗИЯНЫ...	227
<i>Тунгушбаева З.Б., Сайлаубек Қ.Х.</i>	
ГАЗДАЛҒАН СУСЫН ӘСЕРІНЕН АТАЛЫҚ ЖЫНЫС БЕЗІНДЕ ТУЫНДАЙТЫН ӨЗГЕРІСТЕР.....	231
<i>Тунгушбаева З.Б., Турсын А.</i>	
ЖАНУАРДЫҢ АЩЫ ІШЕГІНЕ ЭНЕРГЕТИКАЛЫҚ СУСЫННЫҢ ӘСЕРІ.....	235
<i>Турпанова Р. М., Сыман К.Ж., Тасанбиева А. И., Жолжақсы А. Қ. Кулжанова Д.К., Ыскак Камшат</i>	
СОЗДАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ СИСТЕМ IN VITRO ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ.....	239
<i>Чекунова Е.М., Д.В. Пинахина</i>	
ДНК-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ БИОМОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....	243

<i>Шайзадинова А.М., Акбота А.Б., Исханова Б., Бияшева З.М.</i>	
БИОТЕСТ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАДОНООПАСНОЙ ТЕРРИТОРИИ.....	246
<i>Шамишманова А.С., Кудайбергенова А.К., Нургазина А.С., Бегділдаева Н.Ж.</i>	
ТҮЙЕ СҮТІНІҢ СҮТ ҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ АСҚАЗАН-ШЕК ЖОЛДАРЫНЫҢ ШАРТТАРЫНА ТӨЗІМДІЛІГІ.....	250
<i>Шодиев Д. Т., Джураев Т. А., Маматкулова М. Б.</i>	
ГК: FG (GK-ZN) ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛАЗЫ ПРИ РАЗВИТИИ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ	256
<i>Ыбрайкожа Н.П., Токтамысов А.М., Елеуова Э.Ш.</i>	
АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ И КАЧЕСТВА ЗЕРНА РИСА С ПОМОЩЬЮ БИОЛОГИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ НАСЛЕЕ, ПРЕПАРАТА ФИТОП 8.67 И МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ.....	260
<b>СЕКЦИЯ №2. ИННОВАЦИИ И ДОСТИЖЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ.....</b>	<b>265</b>
<i>Zayadan B.K., Tatsuya Tomo, Kakimova A.B., Kossalbayev B.D.</i>	
PROSPECTS OF HETEROCYSTIC CYANOBACTERIA IN THE PRODUCTION OF BIOHYDROGEN.....	266
<i>Nagmetova G.Zh., Martynenko V.V., Kurmanbayev A.A.</i>	
PRINCIPLES AND APPLICATION OF PLANT MICROBIAL FUEL CELLS.....	269
<i>Saparbekova A.A., Latif A.S., Achmedova Z.R., Kantureyeva G.O.</i>	
PROSPECTS FOR THE USE OF WASTE FROM INDUSTRIAL PROCESSING OF GRAPES AS A SOURCE OF POLYPHENOL-RESVERATROL.....	273
<i>Болатхан К., Усербаева А.А., Заядан Б.К., Нурабаева Д. Б., Какимова А.Б.</i>	
ПОИСК И ВЫДЕЛЕНИЕ АКСЕНИЧНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ДЛЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА.....	277
<i>Заядан Б.К., Лось Д.А., Садвакасова А.К., Болатхан К., Сарсекеева Ф.К.</i>	
ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА БИОТОПЛИВА НА ОСНОВЕ ФОТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ .....	281
<i>Мартыненко В.В., Урвачева Р.Н., Нагметова Г.Ж., Курманбаев А.А.</i>	
БУМАЖНЫЕ МИКРОБНЫЕ ТОПЛИВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КАК НАИБОЛЕЕ ДЕШЕВЫЕ МОДЕЛИ ИХ ДИЗАЙНА.....	286



*Научное издание*

**Международная научно-практическая конференция  
«Аспекты и инновации биотехнологии окружающей среды и биоэнергетики»,  
посвященная 60-летию академика Национальной Академии Наук Республики  
Казахстан, декана факультета биологии и биотехнологии КазНУ имени аль-Фараби,  
доктора биологических наук, профессора Заядана Болатхана Казыхановича,  
12-13 февраля, 2021 г.**

**ИБ № 14222**

Подписано в печать 10.02.2021. Формат 60x84 1/8.

Бумага офсетная. Печать цифровая. Объем 18,4 п.л.

Тираж 50 экз. Заказ №1334. Цена договорная.

Издательский дом «Қазақ университеті»

Казахского национального университета имени аль-Фараби.

050040, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71, КазНУ.

Отпечатано в типографии издательского дома «Қазақ университеті».