

әл-Фараби атындағы
Қазақ ұлттық университеті

Казахский национальный университет
имени аль-Фараби

ҚазҰУ
ХАБАРШЫСЫ
Биология сериясы

ВЕСТНИК
КазНУ
Серия биологическая

АЛМАТЫ

№ 3 (42)

2009

Выходит 3 раза в год. Собственник КазНУ имени аль-Фараби

Основан 22.04.1992 г.

Регистрационное

свидетельство № 766.

Перерегистрирован

Министерством культуры,
информации и общественного
согласия Республики Казахстан
25.11.99 г.

Регистрационное
свидетельство №956-Ж

Редакционная коллегия:

Шалахметова Т.М., д.б.н., проф.,
(научный редактор)

Гончарова А.В., к.б.н., доцент
(ответственный секретарь)
тел.: 377-33-29

Тулеуханов С.Т., д.б.н., проф.,
Шигаева М.Х., д.б.н., проф.,
Мухитдинов Н.М., д.б.н., проф.,
Жубанова А.А., д.б.н., проф.,
Иващенко А.Т., д.б.н., проф.,
Нуртазин С.Т., д.б.н., проф.,
Олжабекова К.Б., к.б.н., доцент,
Айташева З.Г. д.б.н.,
Бисенбаев А.К., к.б.н., доц.,
Сапаров К.А., д.б.н., проф.,
Айдосова С.С., д.б.н., проф.,
Берсимбаев Р.И., д.б.н., проф.

Вестник КазНУ
Серия биологическая
№ 3 (42) 2009 г.

ИБ № 4756

Подписано в печать 26.10.2009.

Формат 90х110 1/8.

Бумага офсетная № 1.

Печать офсетная. Уч.-изд.л. 16.

Тираж 500 экз. Заказ № 053

Цена договорная.

Издательство «Қазақ
университеті» Казахского
национального университета
имени аль-Фараби.

050038, г.Алматы,

пр.аль-Фараби, 71, КазНУ.

Отпечатано в типографии

издательства

«Қазақ университеті»

СОДЕРЖАНИЕ:**БОТАНИКА**

- Кентбаева Б.А.** Биолого-морфологическая характеристика боярышников г. Алматы по параметрам плодов.....3
- Кентбаева Б.А.** Биологические особенности и изменчивость листовых пластинок боярышников г. Алматы 10
- Кожамкулова Ж.Ж.** Видовой состав и частота встречаемости грибов рода *Fusarium* на репчатом луке в условиях юго-востока Казахстана18
- Мамыкова Р.У.**
Түкті оймақшаның (*Digitalis lanata Ehrh*) оңтүстік Қазақстанда өсу ерекшеліктері21
- Мамыкова Р.У.** *Echinacea angustifolia L.* морфологиялық ерекшеліктері мен анатомиялық құрылысы24

БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

- Бисенбаев А.К., Алтыбаева Н.А., Мусина А.А., Тайпакова С.М.**
Эффект асидификации инкубационной среды на секреторную и антиоксидантную ферментативную систему алейронового слоя зерна пшеницы28
- Есмуханбетов Д. Н., Садыкулов Т.С., Серикбаева А.Д.** Изучение белкового состава сыворотки крови маралов – рогачей31
- Кауламбаева М.З.** Сепарация, культивирование и фенотипирование ствольных клеток пуповинной крови33
- S.K. Mukhambetzhonov** The phenomenon of apomixis in some monocotyledones36

ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

- Аймбетов Р.С., Полимбетова Л., Станбекова Г., Бисенбаев А.К., Искаков Б.К.** Характеристика и амплификация гена альфа-фетопротеина человека43
- Байқошқарова С.Б.** Денеден тыс ұрықтандыру бағдарламасында анеуплоидты абберрацияларды анықтау47
- Кирикбаева М.С.** Основные генетико-демографические параметры сельской популяции Алматинской области Республики Казахстан 50
- Кирикович С.С., Левитес Е.В.** Эпигенетическая изменчивость и эволюция растений 55
- Левитес Е.В.** Дифференциальная эндоредупликация хромосом как дополнительный способ кодирования наследственной информации у растений (теоретическая модель)..... 57
- Тайпакова С.М., Станбекова Г., Бисенбаев А.К., Ысқақов Б.К.** *Lentimula edodes* саңырауқұлағының термотұрақты целлюлогидролаза гендерін сипаттау және амплификациялау 60
- Е.К. Турусбеков** Генетическое картирование локусов количественных признаков генома ячменя, детерминирующих засухоустойчивость 64

ГИСТОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ	
Жарков Н.В., Нуртазин С.Т., Жаркова И.М. Особенности морфологии и распределения опухоле-ассоциированных макрофагов в колоректальных карциномах	72
Смагулова Г.К., Толмачев В.С., Кудрина Н.О. Влияние методов криоконсервации на жизнеспособность и сохранность рецепторов CD 34, 45 на мононуклеарных клетках пуповинной крови	76
ЗООЛОГИЯ	
Байтурсинов К.К. Значение овец в поддержании синантропных очагов тениидозов на юге Казахстана ..	79
Байтурсинов К.К. Краткие данные по биологии и зараженности гельминтами сайгака (<i>Saiga tatarica</i> L., 1766) в Казахстане	83
Есенбекова П.А. К фауне полужесткокрылых (<i>Heteroptera</i>) Сайрам-Угамского природного парка (Южный Казахстан)	88
ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ, БИОФИЗИКА	
Акимова О.Г. Особенности мобилизации функций кардиореспираторной системы у спортсменов при напряженной мышечной работе в период реакклиматизации после тренировок в условиях среднегорья	92
Altayeva A.S, Khanturin M.R Differential cytotoxic effects of heavy metals on the NF κ B signal pathway and effect of antioxidant	97
Габдуллина Е.Ж. Факторы, влияющие на пороги восприятия температуры рецепторами кожи	102
Iskakova S.A. Behaviour of rats in the raised crosswise labyrinth during subchronic extermination by the steams of sulfur	105
Макеева Л.А. О роли смеси полимеров на яйценоскость кур кросса «Омский белый»	108
Тулеуханов С.Т., Атанбаева Г.К., Мохасеб М.А., Бактыбаева Л.К., Маутенбаев А.А. Контактное и опосредованное воздействие инфразвука на лейкоциты крови крыс	112
ЮБИЛЕИ	
Торманов Нұртайға 70 жас және ғылыми педагогикалық еңбек жолына 45 жыл	116
Аманкул Бекенович Бекенов К 70-летию со дня рождения	117

УДК: 634.17: 630 * 164.7

Кентбаева Б.А.

**БИОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
БОЯРЫШНИКОВ г. АЛМАТЫ ПО ПАРАМЕТРАМ ПЛОДОВ**
(Институт ботаники и фитоинтродукции ЦБИ КН МОН РК)

В статье приведены данные боярышников по параметрам плодов, произрастающих на трех контрастных экологических участках. Лучшими количественными параметрами плодов обладает на всех трех участках местный вид *C. sanguinea* Pall. По совокупности трех признаков плоды этого вида следует признать крупноплодными. Относительно низкие размеры плодов принадлежат североамериканскому образцу *C. douglasii* Lindl., который характеризуется мелкоплодностью на фоне остальных видов. По линейным размерам выявлены достоверные и существенные различия, которые указывают на неоднородность исследуемого материала. Методом корреляционного анализа установлена средняя взаимосвязь между массой плодов и его длиной и шириной.

Одним из важнейших показателей качества развития растений является его способность к репродукции - плодоношению. Для полноценного плодообразования растению необходимо сочетание комплекса различных экологических факторов (свет, вода, тепло). На плодоношение не менее важное значение оказывает биохимическое и физиологическое состояние растения, его географическое происхождение. Введение в состав городских насаждений растений, образующих съедобные плоды нужно производить с максимальной осторожностью. Конечно, красиво цветущие и плодоносящие виды являются декоративными и украшают общий облик города и эти растения необходимо включать в ассортимент озеленения. Главной опасностью для населения являются созревшие съедобные и имеющее разное лекарственное значение плоды, которые употребляются очень часто в пищу. Чаще потребителями становятся дети. В данном разделе мы рассматриваем плоды боярышника не как объект потребления в пищу, а как фитоиндикатор состояния окружающей среды и растения в целом.

Плоды для всех видов экспериментов заготавливались с не менее 10 деревьев каждого вида боярышника [1]. Плоды в состоянии морфологической зрелости отбирали из верхнего и среднего ярусов с периферийных частей нормально освещенной кроны, измерялись в количестве 20 штук. Длину и диаметр плода измеряли штангенциркулем с точностью до 0.1 мм. Массу плодов определяли на лабораторных весах типа MW-T с точностью до 0.001 г. Для установления наличия достоверных различий был проведен дисперсионный, корреляционный анализ по общепринятым методикам. На всех этапах работы был соблюден принцип единственности различий, что позволило получить достоверные результаты. Цифровая информация обрабатывалась общепринятыми методами математической статистики [2] с применением компьютерных программ, разработанных Е.Ж.Кентбаевым и Б.А.Кентбаевой.

Объектом исследований являлись 5 видов боярышника (*Crataegus* L.), произрастающие в посадках г.Алматы: среднеазиатские виды: *C. almaatensis* Pojark., *C. altaica* Lge., *C. sanguinea* Pall., дальневосточный вид: *C. dahurica* Koehne; североамериканский вид: *C. douglasii* Lindl. Отбор образцов для экспериментов проводился согласно административному делению города. Для исследований были выбраны три контрастных экоучастка в черте г.Алматы: экологический участок № 1 - Алмалинский район г.Алматы, расположенный в центральной части города; экологический участок № 2 - Жетысуский район г.Алматы, расположенный в северной части города; экологический участок № 3 - Главный Ботанический сад, находящийся в Бостандыкском районе г.Алматы, условия произрастания растений более близки к природным экосистемам. Внутри районов территория условно была разделена на зоны, характеризующихся контрастом по антропогенной нагрузке, по загрязненности и влиянию факторов среды: примагистральные и внутриквартальные насаждения.

Изучаемые виды боярышников характеризуются специфичностью параметров плодов, зависящие, а первую очередь от наследственной обусловленности. К примеру, исследуемые боярышники даже при визуальном осмотре имеют абсолютно контрастные плоды по цветовой гамме, по размерам и вкусовым качествам. Как экстремальные экологические условия повлияли на параметры плодов изучаемых боярышников, мы рассмотрим ниже. Нами были изучены линейные параметры и масса плодов (таблица 1).

Примагистральные насаждения. По длине плодов боярышники в пределах рода растения изменяются на очень низком и низком уровне, согласно шкале уровней изменчивости, оцениваемой по значениям коэффициентов вариации. На основании арифметических значений была вычислена среднеарифметическая величина (12.624 мм), как критерий для оценки всей группы растений. Наибольшая длина плодов наблюдается у сильнорослого местного вида с довольно крупными плодами на фоне остальных при визуальном осмотре.

Мелкими плодами характеризуется *C. douglasii* Lindl. (9.91 мм). Размах варьирования средних величин составляет 7.31 мм. Остальные виды располагаются в средних рядах ранга. Длина плодов *C. almaatensis* Pojark. (13.51 мм) имеет параметры близкие к средневзвешенной величине. В этой группе растений наибольшее лимитное значение равное 18.3 мм принадлежит лидеру по длине листьев *C. sanguinea* Pall., а минимальная величина 8.7 мм *C. douglasii* Lindl.

Растения, произрастающие на втором экоучастке, претерпевают воздействие неблагоприятных факторов, что отразилось на изучаемых признаках. Средневзвешенная величина составила 11.720 мм. Наиболее близок к ней по своим параметрам местный вид *C. almaatensis* Pojark. (12.86 мм). Крупноплодностью отличается *C. sanguinea* Pall., длина плодов которого равна в среднем 16.01 мм, что на 1.21 мм меньше чем в первом случае. Такое расхождение является достаточным и существенным, чтобы смело говорить о сильном воздействии экофактора района на характер формирования плода.

Таблица 1 - Данные линейных параметров и массы плодов боярышника

Участки	Видовые названия	Средние значения, М ± m		
		длина плодов, мм	диаметр плодов, мм	масса плодов, г
Экологический участок № 1	<i>примагистральные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	13.51 ± 0.23	14.62 ± 0.24	1.71 ± 0.01
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	11.21 ± 0.17	12.12 ± 0.22	1.02 ± 0.02
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	17.22 ± 0.17	16.15 ± 0.17	2.36 ± 0.02
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	11.27 ± 0.19	11.96 ± 0.18	1.18 ± 0.02
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	9.91 ± 0.21	10.95 ± 0.16	0.81 ± 0.02
		HCP ₀₅ - 0.39	HCP ₀₅ - 0.41	HCP ₀₅ - 0.03
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	13.67 ± 0.20	14.66 ± 0.22	1.77 ± 0.01
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	11.42 ± 0.15	12.43 ± 0.17	1.06 ± 0.01
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	17.31 ± 0.16	16.25 ± 0.17	2.41 ± 0.02
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	11.32 ± 0.17	12.09 ± 0.18	1.21 ± 0.01
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	9.99 ± 0.13	11.12 ± 0.16	0.86 ± 0.02
		HCP ₀₅ - 0.33	HCP ₀₅ - 0.37	HCP ₀₅ - 0.03
Экологический участок № 2	<i>примагистральные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	12.86 ± 0.23	13.97 ± 0.29	1.42 ± 0.02
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	10.21 ± 0.16	11.14 ± 0.21	0.95 ± 0.01
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	16.01 ± 0.20	15.22 ± 0.16	2.23 ± 0.02
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	10.26 ± 0.16	11.32 ± 0.20	1.08 ± 0.03
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	9.26 ± 0.18	10.28 ± 0.22	0.72 ± 0.02
		HCP ₀₅ - 0.39	HCP ₀₅ - 0.43	HCP ₀₅ - 0.05
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	13.23 ± 0.19	14.13 ± 0.19	1.47 ± 0.02
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	10.72 ± 0.19	11.53 ± 0.19	0.99 ± 0.02
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	16.54 ± 0.17	15.73 ± 0.16	2.29 ± 0.03
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	10.73 ± 0.22	11.68 ± 0.22	1.12 ± 0.03
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	9.72 ± 0.16	10.69 ± 0.17	0.78 ± 0.02
		HCP ₀₅ - 0.35	HCP ₀₅ - 0.36	HCP ₀₅ - 0.05
Экологический участок № 3	<i>эталонные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	13.84 ± 0.24	14.77 ± 0.22	1.83 ± 0.01
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	11.42 ± 0.21	12.37 ± 0.18	1.08 ± 0.01
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	17.34 ± 0.15	16.47 ± 0.15	2.56 ± 0.02
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	11.68 ± 0.12	12.23 ± 0.13	1.21 ± 0.01
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	10.02 ± 0.10	11.19 ± 0.11	0.86 ± 0.01
		HCP ₀₅ - 0.35	HCP ₀₅ - 0.28	HCP ₀₅ - 0.03

Мелкоплодным видом на фоне остальных изучаемых следует признать североамериканский вид *C. douglasii* Lindl., который формирует плоды длиной 9.26 мм. По параметрам плодов два изучаемых вида оказываются схожими - это местный вид *C. altaica* Lge. и (10.21 мм) и дальневосточный *C. dahurica* Koehne (10,26 мм) (рисунки 1, 2, 3).

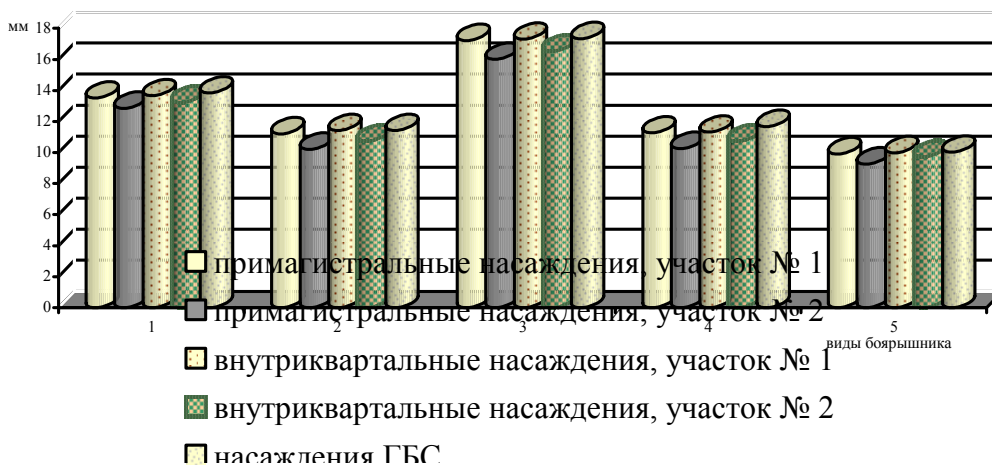
Разность средних величин этих двух видов не превышает значение HCP_{05} - 0.39 мм. В остальных 9 случаях разности оказываются существенными. Максимальные средние по массе плодов принадлежат лидеру по линейным параметрам среднеазиатскому виду *C. sanguinea* Pall. - 2.36 г. Минимумом по признаку обладает североамериканский вид *C. douglasii* Lindl. (0.81 г), отстающий и по линейным параметрам. Разница между максимумом и минимумом массы составляет почти три раза, что очень значимо. Амплитуда варьирования этих показателей равна 1.55 г, это довольно широкий диапазон.

Между данными двух экоучастков по магистральным насаждениям фиксируются значительные различия, которые были установлены с помощью *t*-критерия. На рассматриваемом участке наибольшую массу плодов образовал местный вид *C. sanguinea* Pall. - 2.23 г, «легкие» плоды - у *C. douglasii* Lindl. - 0.72 г. Размах варьирования - 1.51 г. Между средними значениями обнаруживаются различия на существенном уровне (HCP_{05} - 0.05 г). Интродуцированные виды *C. dahurica* Koehne и *C. douglasii* Lindl., занимающие соответственно 3 и 5 позиции, обладают большей изменчивостью массы плодов в среднем 12.65 %.

Внутриквартальные насаждения. Изоляция боярышников в составе этого типа насаждений влияет на увеличение параметров плодов, что указывает на относительно благоприятные условия произрастания. При более детальном рассмотрении этих данных существенные различия проявляются на межвидовом уровне в пределах своего типа насаждений. При сопоставлении же двух типов посадок существенные различия не обнаруживаются.

Длинные плоды образует *C. sanguinea* Pall. - 17.31 мм, что является пока лучшим показателем и среди видов, и среди рассматриваемых участков, и типов посадок. «Короткие» плоды формирует *C. douglasii* Lindl. - 9.99 мм. Средневзвешенная величина составила - 12.742 мм. Среди лимитных значений по всем трем участкам максимальная величина фиксируется у *C. sanguinea* Pall. - 18.6 мм, а абсолютный минимум отмечен у *C. douglasii* Lindl. - 8.3 мм, которые являются абсолютным лидером и аутсайдером соответственно.

На втором экологическом участке (Жетысуский район) максимальная средняя величина определена у местного вида *C. sanguinea* Pall. (16.54 мм), что на 0.77 мм меньше, чем на первом участке, разность согласно *t*-критерию считается существенной.

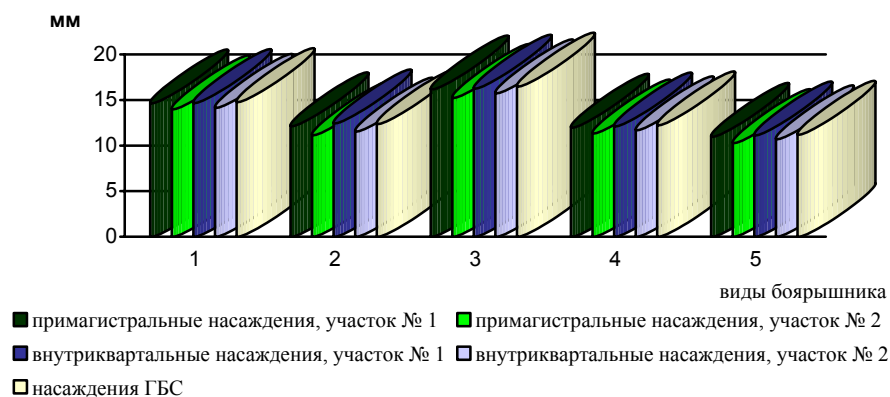


1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 1 - Изменчивость длины плодов боярышников

Эталонные насаждения из участка № 3 (ГБС) образовали наиболее длинные плоды на фоне остальных рассматриваемых вариантов. Более благоприятные условия Главного ботанического сада, их приближенность к природным экосистемам по своим характеристикам в данном случае создали перевес в пользу первых в сравнении с влиянием экологических факторов загрязненности мегаполиса в целом. Средневзвешенная величина 12.860 мм говорит о степени отставания боярышников из двух других экологических участков. Внутриквартальные насаждения

Алмалинского района по своим параметрам плодов располагаются ближе к данным плодов эталонного участка, что можно отследить по средневзвешенным величинам в целом и по каждому виду боярышника в отдельности. Плоды боярышников из Алмалинского района имеют средние значения диаметров, несколько превышающие данные примагистральных насаждений. Однако эти изменения в большую сторону являются не существенными на что указывают t-критерии. Тем не менее, важен сам факт того, что в составе внутриквартальных посадок рост и развитие боярышников более благоприятен.

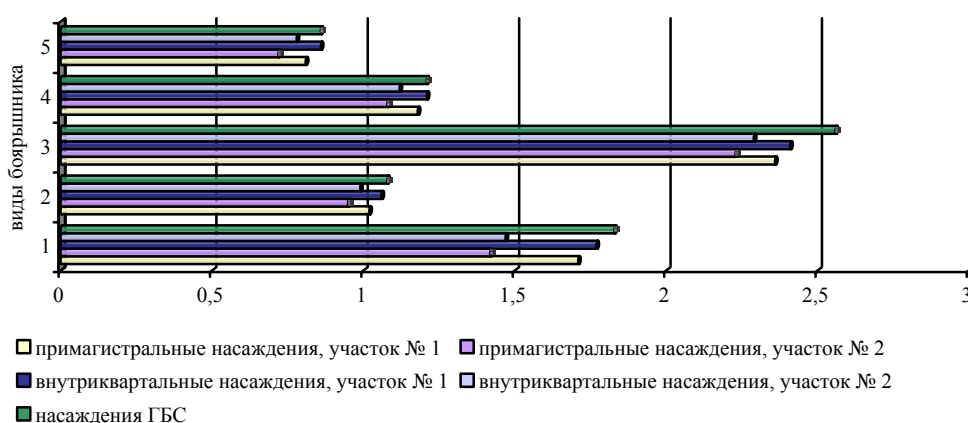


1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 2 - Сравнение ширины плодов боярышников

Наиболее крупноплодными плодами характеризуются *C. sanguinea* Pall. - 16.25 мм и ему же соответствует абсолютное максимальное лимитное значение диаметра плодов равное 17.8 мм. Относительно меньшие результаты показывает *C. douglasii* Lindl. - 11.12 мм. Остальные виды занимают промежуточные позиции, укладывающиеся в диапазон изменчивости равный 5.13 мм. Существенные различия не выявлены только в одном сравниваемом варианте: *C. altaica* Lge. - *C. dahurica* Koehne.

В 9 сравниваемых случаях установлены существенные различия, которые превышают НСР₀₅ - 0.36 мм. При попарном сравнении одних и тех же видов между двумя типами насаждений, существенных различий вскрыть не удалось, что говорит о наследственной предрасположенности.



1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 3 - Показатели массы плодов боярышников

Боярышники эталонного участка образуют плоды, отличающиеся наиболее крупным диаметром на фоне остальных участков. Учитывая особые микроклимат и экоусловия ботанического сада можно сказать, что эти параметры плодов максимально приближены к собственным величинам, образуемые

в естественных условиях, на это указывают очень низкие коэффициенты вариаций по каждому виду боярышника. Наибольшие диаметры плодов можно отметить у *C. sanguinea* Pall. - 16.47 мм. Это на существенном уровне отличается от данных двух типов насаждений второго экологического участка. Относительной мелкоплодностью отличается *C. douglasii* Lindl. - 11.19 мм. Средневзвешенная величина равна - 13.406 мм.

Рассматривая лимитные значения, следует указать, что максимальные и минимальные значения по массе плодов принадлежат *C. sanguinea* Pall. и *C. douglasii* Lindl. 2.68 и 0.68 г соответственно. Лимиты указывают на крайние варианты вариационного ряда и в большинстве своем это единичные значения. Усредненные значения лимитов примерно соответствует данным средней массы вариационного ряда.

Корреляционный анализ. Имея параллельные первоисточники, т.е. материалы, полученные в ходе последовательных измерений длины, диаметра и массы нам удалось провести полноценный корреляционный анализ (таблица 2).

Таблица 2 - Корреляционный анализ по линейным параметрам и массе плодов боярышников двух контрастных экоучастков

Виды боярышника	Признаки плодов			
		длина	диаметр	масса
<i>C. almaatensis</i> Pojark.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.68 ± 0.123	0.51 ± 0.170
	диаметр	0.68 ± 0.123		0.48 ± 0.177
	масса	0.51 ± 0.170	0.48 ± 0.177	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.53 ± 0.165	0.56 ± 0.159
	диаметр	0.53 ± 0.165		0.41 ± 0.191
	масса	0.56 ± 0.159	0.41 ± 0.191	
<i>C. altaica</i> Lge.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.66 ± 0.129	0.53 ± 0.165
	диаметр	0.66 ± 0.129		0.44 ± 0.185
	масса	0.53 ± 0.165	0.44 ± 0.185	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.52 ± 0.166	0.43 ± 0.187
	диаметр	0.52 ± 0.166		0.30 ± 0.208
<i>C. sanguinea</i> Pall.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.61 ± 0.143	0.32 ± 0.206
	диаметр	0.61 ± 0.143		0.55 ± 0.160
	масса	0.32 ± 0.206	0.55 ± 0.160	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.73 ± 0.106	0.44 ± 0.186
	диаметр	0.73 ± 0.106		0.58 ± 0.153
<i>C. dahurica</i> Koehne	масса	0.44 ± 0.186	0.58 ± 0.153	
	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.51 ± 0.170	0.33 ± 0.205
	диаметр	0.51 ± 0.170		0.59 ± 0.151
	масса	0.33 ± 0.205	0.59 ± 0.151	
	участок № 3 - эталонные насаждения			

	длина		0.67 ± 0.127	0.61 ± 0.144
	диаметр	0.67 ± 0.127		0.52 ± 0.167
	масса	0.61 ± 0.144	0.52 ± 0.167	
<i>C. douglasii</i> Lindl.	<i>участок № 2 - примагистральные насаждения</i>			
	длина		0.53 ± 0.165	0.45 ± 0.184
	диаметр	0.53 ± 0.165		0.40 ± 0.193
	масса	0.45 ± 0.184	0.40 ± 0.193	
	<i>участок № 3 - эталонные насаждения</i>			
	длина		0.56 ± 0.156	0.41 ± 0.191
	диаметр	0.56 ± 0.156		0.65 ± 0.134
	масса	0.41 ± 0.191	0.65 ± 0.134	

Между всеми изучаемыми признаками существует положительная прямолинейная связь, степень которой оценивается как средняя. Только в случае между длиной и диаметром плодов у местного вида *C. sanguinea* Pall. из эталонного участка связь оказывается сильной. Таким образом, на характер и степень тесноты связи условия экоучастков не оказывают влияния. Обусловленность взаимозависимости признаков определена генетически фактором.

Дисперсионный анализ. Для определения достоверных различий, установления степени влияния внешних факторов, выявленные доли генетической наследуемости признаков был проведен дисперсионный анализ (таблица 3).

Таблица 3 - Дисперсионный анализ по параметрам плодов боярышника на контрастных экологических участках

№ участка	Показатели	Длина	Диаметр	Масса
Участок № 1 (Алмалинский район)	<i>примагистральные насаждения</i>			
	Критерий Фишера опытный	511.93	239.61	3336.32
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.956	0.910	0.993
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.002	0.004	0.0003
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.046	0.094	0.0007
	Наименьшая существенная разность	0.39	0.41	0.03
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	Критерий Фишера опытный	724.64	285.49	3542.88
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.968	0.923	0.993
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.001	0.003	0.0003
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.033	0.080	0.007
	Наименьшая существенная разность	0.33	0.37	0.03
Участок № 2 (Жетысууский район)	<i>примагистральные насаждения</i>			
	Критерий Фишера опытный	479.68	219.49	1432.47
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.953	0.902	0.984
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.002	0.004	0.0007

Продолжение таблицы 2

Участок № 2 (Жетысуский район)	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.049	0.102	0.017
	Наименьшая существенная разность	0.39	0.43	0.05
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	Критерий Фишера опытный	572.61	311.01	1540.15
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.960	0.929	0.985
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.002	0.003	0.0006
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.042	0.074	0.016
	Наименьшая существенная разность	0.35	0.36	0.05
Участок № 3 (ГБС)	<i>эталонные насаждения</i>			
	Критерий Фишера опытный	620.51	669.53	6470.93
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.963	0.966	0.996
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.002	0.001	0.0002
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.038	0.036	0.004
	Наименьшая существенная разность	0.35	0.28	0.03

Опытные критерии Фишера во всех случаях значительно превышают его табличные данные на 95 % уровне значимости.

Столь большая разность указывает на высокую степень достоверность полученных результатов. Показатель плодов боярышника в большей степени зависит от генетической предрасположенности. Так, наглядным свидетельством тому служит показатель силы влияния фактора, который находится в пределах от 90.2 до 99.6 %. Величина наименьшей существенной разности позволила выявить значимость различий между средними значениями, на что мы неоднократно ссылались внутри раздела. На основании дисперсионного анализа можно сделать выводы о том, что все виды боярышника вовлеченные в экспериментальные работы и произрастающие на разных экологических участках существенно отличаются друг от друга по параметрам плодов, что свидетельствует о характере распределения видов внутри типов насаждений, в частности можно говорить о существовании экотипов боярышников в пределах г.Алматы.

Итак, наибольшее воздействие комплекса экофакторов испытывают боярышники Жетысуского экорайона, характеризующего как самый неблагоприятный в экологическом плане район г.Алматы. Из наблюдаемых типов насаждений низкие показатели имеют боярышники из примагистральных посадок. Здесь на относительно низкую результативность оказывает воздействие внешних причин: асфальтовые и бетонные покрытия, интенсивное движение автотранспорта и людей, электромагнитное излучение линий электропередач, нарушенный водно-воздушный режим почв, интенсивность и продолжительность солнечного воздействия и т.д. Растения из внутриквартальных насаждений и ботанического сада оказались в более благоприятных условиях по сравнению с примагистральными. Наиболее близкие результаты к показателям эталонного участка имеют внутриквартальные посадки Алмалинского района. Такое приближение показателей свидетельствует, что условия первого экологического участка улучшены и зависят от общего состояния административного района (2.6 %), который в плане загрязненности атмосферного воздуха занимает низшие ступени среди районов г.Алматы. Насаждения же ботанического сада именно потому и являются эталонными, что условия в них приближены к условиям естественного произрастания боярышников.

Из материалов изложенных выше, можно сделать заключение, что изучаемый ассортимент боярышников характеризуется большой степенью неоднородности. Различия выявлены по трем изучаемым параметрам: длине, диаметру и массе плодов. В большей степени различия характеризуются как существенные в пределах одного типа насаждений. Вместе с тем обнаруживаются значимые различия между видами боярышника, произрастающих на контрастных экологических участках.

Литература

- 1 Прохоров И.А., Потапов С.П. Практикум по селекции и семеноводству овощных и плодовых культур. - М.: Колос.- 1975. - 304 с.
2 Плохинский Н.А. Биометрия. - М.: МГУ.- 1970. - 367 с.

УДК: 634.17: 630 * 164.5

Кентбаева Б.А.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИНОК БОЯРЫШНИКОВ г. АЛМАТЫ

(Институт ботаники и фитоинтродукции ЦБИ КН МОН РК)

В статье приведены результаты математической обработки параметров листовых пластинок боярышников, произрастающих на разных экологических участках и контрастных категориях насаждений. На параметры листовых пластинок достаточно сильное оказывают влияние сложные условия техногенной среды мегаполиса. Дисперсионный анализ выявил разнокачественность изучаемых признаков, которая обусловлена генетической наследственностью.

Листья являются вегетативной структурой дерева, играя важную роль в жизни растения. Через листовые пластинки происходит испарение лишней обедненной воды. Благодаря транспирирующей способности листьев происходит движение воды, по всему организму снабжая его необходимыми органическими и неорганическими веществами, растворенными в воде. Листовые пластинки играют главную роль в фотосинтезе растения. В листьях происходят основные сезонные изменения, здесь аккумулируются в большей степени вредные выбросы, тяжелые металлы, пыль и т.д. Следовательно, посредством листовой поверхности очищается атмосферный воздух. Листья являются главным биоиндикатором состояния растения, по их внешнему признаку можно судить о водообеспеченности растения, по изменениям окраски - о недостающих элементах питания. И.В.Мичурин по внешнему облику растения судил о перспективности нового гибридного растения и тут же производил сортировку. И не случайно основная масса физиологических и биохимических исследований связана с использованием листьев, так как они являются самым чувствительным органом, несущим основную и информацию о состоянии растения в целом. В связи с этим мы также не могли обойти листовые пластинки как ценный признак для получения полной информации об экологическом состоянии боярышников г.Алматы.

Листья для исследований брались по 20 штук из средней части побегов, нормально освещенных по периферии средней части кроны. Достаточность этого количества подтверждается предварительными расчетами, в которых при числе $N=20-30$, критерий достоверности Стьюдента $t>3$, точность опыта находилась в пределах 5 %. Длину и ширину листовой пластинки определяли линейкой с точностью до 1 мм, массу на торсионных весах с точностью до 0.01 г [1]. Для установления наличия достоверных различий был проведен дисперсионный, корреляционный анализ по общепринятым методикам. На всех этапах работы был соблюден принцип единственности различий, что позволило получить достоверные результаты. Цифровая информация обрабатывалась общепринятыми методами математической статистики [2] с применением компьютерных программ, разработанных Е.Ж. Кентбаевым и Б.А. Кентбаевой.

Объектом исследований являлись 5 видов боярышника (*Crataegus L.*), произрастающие в посадках г.Алматы: среднеазиатские виды: *C. almaatensis* Pojark., *C. altaica* Lge., *C. sanguinea* Pall., дальневосточный вид: *C. dahurica* Koehne; североамериканский вид: *C. douglasii* Lindl. Отбор образцов для экспериментов проводился согласно административному делению города. Для исследований были выбраны три контрастных экоучастка в черте г.Алматы: экологический участок № 1 - Алмалинский район г.Алматы, расположенный в центральной части города; экологический участок № 2 - Жетысуский район г.Алматы, расположенный в северной части города; экологический участок № 3 - Главный Ботанический сад, находящийся в Бостандыкском районе г.Алматы, условия произрастания растений более близки к природным экосистемам. Внутри районов территория условно была разделена на зоны, характеризующихся контрастом по антропогенной нагрузке, по загрязненности и влиянию факторов среды: примагистральные и внутриквартальные насаждения.

Длина листовых пластинок. Длина листовых пластинок является основным параметром, определяющим их площадь и форму. Нами изучались линейные параметры по длине и ширине, а также масса листовых пластинок по пяти различным видам боярышника, произрастающих на трех

контрастных экологических участках и по трем противоположным категориям насаждений. Результаты исследований и статистической обработки полученных материалов приводятся в таблице 1 и на рисунках 1, 2, 3.

По первому экологическому участку (Алмалинский район) в примагистральных насаждениях среди изучаемого ассортимента боярышников наблюдаются различия оцененные как существенные во всех сравниваемых вариантах. Существенность данных различий определили, используя величину наименьшей существенной разности на 95 % уровне значимости ($HCP_{05} - 2.17$ мм). В данном типе насаждений длинные листья образуются у местного сильнорослого вида *C. sanguinea* Pall. - 81.25 мм, что на 17.1 мм больше чем у североамериканского вида *C. douglasii* Lindl., имеющего более укороченные листовые пластинки - 64.15 мм. Средние позиции занимает *C. altaica* Lge., средняя длина листьев, которого приближается к средневзвешенной величине - 71.52 мм (рисунок 1). На втором экспериментальном участке (Жетысуский район), листья тех же видов синхронно расположились в ряду максимумов и минимумов, лишь несколько уменьшив параметры. Разность средневзвешенных величин составляет 3.2 мм. Изменчивость длины листовых пластинок также увеличилась, размах варьирования средних составил 17.4 мм.

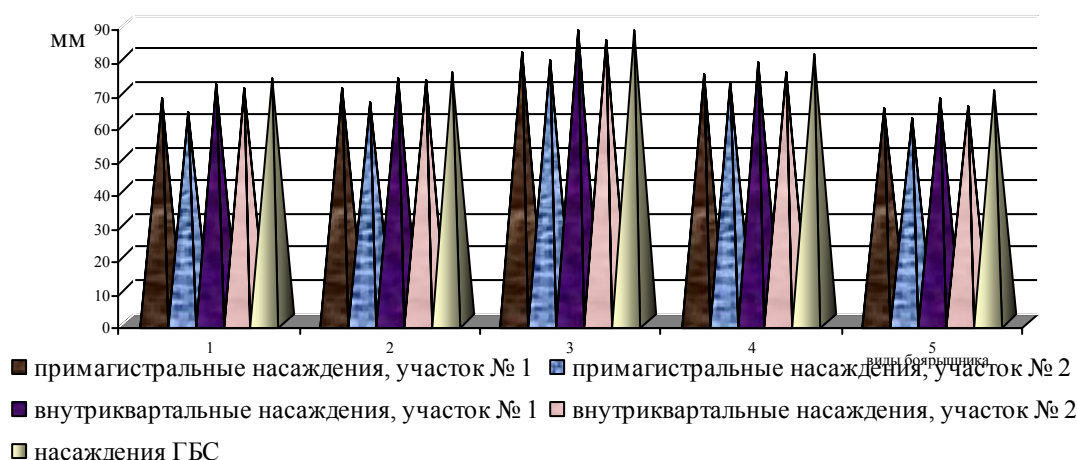
Таблица 1 - Биометрические показатели листовых пластинок боярышников

Участки	Видовые названия	Средние значения, $M \pm m$		
		длина листьев, мм	ширина листьев, мм	масса листьев, г
Экологический участок № 1	<i>примагистральные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	67.55 ± 1.18	78.65 ± 1.36	0.79 ± 0.02
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	70.10 ± 1.18	62.45 ± 1.04	0.57 ± 0.01
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	81.25 ± 1.07	69.75 ± 1.54	0.72 ± 0.01
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	74.55 ± 1.39	68.35 ± 1.35	0.73 ± 0.01
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	64.15 ± 1.49	57.95 ± 1.27	0.43 ± 0.01
		$HCP_{05} - 2.17$	$HCP_{05} - 2.28$	$HCP_{05} - 0.02$
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	71.75 ± 1.33	79.80 ± 1.25	0.82 ± 0.02
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	73.10 ± 1.51	66.70 ± 1.39	0.62 ± 0.02
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	87.65 ± 1.41	72.65 ± 1.79	0.75 ± 0.01
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	78.25 ± 1.58	72.75 ± 1.69	0.77 ± 0.01
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	67.55 ± 1.52	62.25 ± 1.57	0.48 ± 0.01
		$HCP_{05} - 2.20$	$HCP_{05} - 2.62$	$HCP_{05} - 0.03$
Экологический участок № 2	<i>примагистральные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	63.10 ± 1.12	72.25 ± 1.09	0.75 ± 0.02
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	65.95 ± 1.67	59.35 ± 1.30	0.54 ± 0.01
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	78.85 ± 1.01	67.15 ± 1.36	0.69 ± 0.01
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	72.25 ± 1.66	67.65 ± 1.45	0.71 ± 0.01
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	61.45 ± 1.58	55.95 ± 1.36	0.42 ± 0.01
		$HCP_{05} - 2.87$	$HCP_{05} - 2.36$	$HCP_{05} - 0.02$
	<i>внутриквартальные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	70.15 ± 1.16	78.65 ± 1.45	0.81 ± 0.01
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	73.05 ± 1.51	65.15 ± 1.51	0.59 ± 0.02
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	84.70 ± 1.12	72.35 ± 1.62	0.74 ± 0.02
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	75.20 ± 1.45	70.25 ± 0.92	0.71 ± 0.02
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	64.85 ± 1.34	58.85 ± 1.33	0.45 ± 0.01
		$HCP_{05} - 1.97$	$HCP_{05} - 2.43$	$HCP_{05} - 0.03$
Экологический участок № 3	<i>эталонные насаждения</i>			
	1 <i>C. almaatensis</i> Pojark.	73.45 ± 1.51	82.15 ± 1.36	0.85 ± 0.03
	2 <i>C. altaica</i> Lge.	75.30 ± 1.59	68.05 ± 1.56	0.63 ± 0.02
	3 <i>C. sanguinea</i> Pall.	87.85 ± 1.15	75.45 ± 1.01	0.77 ± 0.03
	4 <i>C. dahurica</i> Koehne	80.40 ± 1.80	75.55 ± 2.33	0.79 ± 0.03
	5 <i>C. douglasii</i> Lindl.	69.75 ± 1.19	64.15 ± 1.09	0.50 ± 0.02
		$HCP_{05} - 2.84$	$HCP_{05} - 3.22$	$HCP_{05} - 0.05$

Ранжирование объектов исследований по длине позволило выявить крайние максимальные (*C. sanguinea* Pall. - 78.85 мм) и крайние минимальные величины (*C. douglasii* Lindl. - 61.45 мм). Остальные виды, в том числе два интродуцента занимают промежуточные позиции. Существенные различия между средними величинами удалось выявить в восьми случаях из десяти. Разность

оказалась несущественной в двух вариантах (*C. almaatensis* Pojark. - *C. altaica* Lge. и *C. almaatensis* Pojark. - *C. douglasii* Lindl.), так как она оказалась меньше величины НСР₀₅ - 2.87 мм. Из интродуцированных видов наиболее длинные листья формируются у дальневосточного вида *C. dahurica* Koehne - 72.25 мм. Изменение параметров листовых пластинок на втором экологическом участке связано, скорее всего, с относительной жесткостью окружающей среды в районе примагистральных посадок.

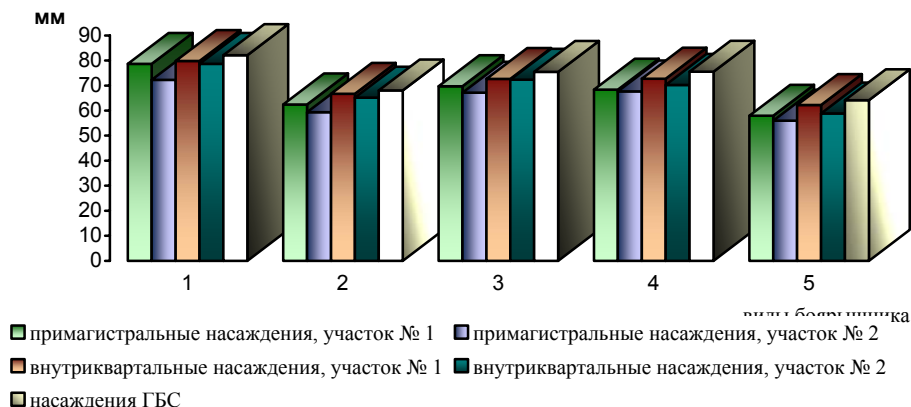
Относительно благоприятные условия произрастания боярышников в составе внутриквартальных посадок положительно отразились на росте и развитии растительности в целом и на изменении отдельных органов в частности. При сопоставлении данных по каждому экологическому району видно, что параметры листьев изменились в сторону увеличения показателей внутриквартальных посадок. Длина листовых пластинок боярышников Алмалинского района оказалась больше чем в примагистральных в среднем на 4.14 мм, что рассчитано по значениям средневзвешенных величин. В этом типе насаждений максимальная длина листьев наблюдается у *C. sanguinea* Pall. - 87.65 мм. Этому же виду принадлежат и крайние лимитные значения - 95 мм. Североамериканский боярышник *C. douglasii* Lindl. располагает самыми низкими показателями длины листьев (67.55 м.) и низким лимитным значением - 56 мм. Размах варьирования внутри этой группы составляет 20.1 мм. Длина листьев *C. altaica* Lge. и *C. dahurica* Koehne оказывается приближенной к средневзвешенному значению - 75.660 мм. Параметры листовых пластинок у местных видов *C. almaatensis* Pojark. и *C. altaica* Lge. различаются между собой в значительной степени, на что указывает НСР₀₅ - 2.20 мм, а во всех остальных вариантах сравнений различия между средними оказались существенными. На втором экологическом участке параметры листовых пластинок у внутриквартальных боярышников превышают показатели примагистральных по всем изучаемым видам. Различие генеральной средней величины составляет 5.27 мм в пользу внутриквартальных посадок. Местный вид *C. sanguinea* Pall. обладает лучшими показателями длины листа. Из двух интродуцированных видов наиболее развитые листья имеет *C. dahurica* Koehne, который с показателем 75.20 мм располагается на второй позиции ранжированного ряда после *C. sanguinea* Pall. Из местных видов короткие листья выявлены у *C. almaatensis* Pojark. - 70.15 мм. При проведении сравнительного анализа между средними величинами обнаруживаются существенные различия во всех вариантах сочетания. Боярышники Главного ботанического сада (экоучасток № 3) находятся в более благоприятных условиях, как мы уже указывали выше, близкие к природным экосистемам. Комплекс экофакторов и главное полив положительно влияют на развитие и состояние листовых пластин, что в данном случае отражается на лучших показателях длины. Даже при визуальном осмотре они занимают лучшие позиции. Средневзвешенная длина листьев составляет 77.35 мм, что является лучшим показателем из рассматриваемых пяти типов посадок. Наибольший показатель длины листа зафиксирован у *C. sanguinea* Pall. - 87.85 мм. Ранжирование видов по параметрам длины листьев полностью совпадает с результатами предыдущих участков, т.е. боярышники во всех типах насаждений занимают практически одни и те же позиции, но с разными цифровыми значениями. Это говорит о стабильности изучаемого признака.



1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 1 - Изменчивость показателей ширины листьев боярышников

Ширина листьев. Равно как и длина, ширина листа является основным параметром, создающим внешний облик растения и отражающий его форму и площадь. Ширина листа определяет его упругость и противостоит внешнему воздействию. В засушливый период листья некоторых растений загибают края, уменьшая тем самым воздействие солнечных лучей, уменьшая интенсивность испарения, увеличивая водоудерживающую способность. Ширина листьев является регулирующим механизмом и имеет большое практическое значение.



1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 2 - Разнохарактерность данных ширины листьев боярышников

Ширина листьев в примагистральных насаждениях изменяется в достаточно широких пределах от 78.65 мм (*C. almaatensis* Pojark.) и до 57.95 мм (*C. douglasii* Lindl.). Размах варьирования максимальных и минимальных средних значений составляет 20.7 мм. Дальневосточный вид *C. dahurica* Koehne с показателем ширины листа 68.35 мм располагается ближе остальных к средневзвешенной величине 67.45 мм. Следовательно, листья *C. dahurica* Koehne по ширине могут служить своеобразным ориентиром при анализе других показателей.

В этом и следующих случаях прослеживается интересная картина. Если *C. douglasii* Lindl. имел самые короткие листья, то его узкие листья не вызывают вопросов. Местный же вид *C. sanguinea* Pall. является во всех случаях лидером и по длине листьев опережает другие виды, а по ширине явно уступает свои позиции и отходит на вторую и третью ступени. *C. almaatensis* Pojark. наоборот, по длине листьев приближается к явному аутсайдеру *C. douglasii* Lindl., а по ширине становится на первую позицию. В целом листья *C. sanguinea* Pall. имеют более вытянутую форму. Все эти факты можно объяснить морфологией листьев. Листья некоторых видов (например, *C. almaatensis* Pojark.) более широкие и лопастные в сравнении с другими.

Боярышники Жетысуского экоучастка имеют относительно узкие листья (таблица 2). Величина средневзвешенного показателя равна 64.47 мм, что на 2.96 мм меньше чем в этом же типе насаждений первого экоучастка. Широкие листья сформированы у *C. almaatensis* Pojark. - 72.25 мм, ему соответствуют максимальные лимитные значения равные 88 мм. Относительно узкие листовые пластинки образованы у североамериканского представителя *C. douglasii* Lindl. - 55.95 мм, абсолютные минимальные значения, составляющие 48 мм, имеет этот же североамериканский вид.

Во внутриквартальных посадках боярышники, более изолированы от общего автомобильного и людского потоков. Кроме того, не очень продолжительное воздействие солнечных лучей не сильно влияет на водный дефицит и, следовательно, развитие их идет в лучших условиях. Материалы таблицы 2 подтверждают это утверждение, что видно из более высоких значений средневзвешенной величины (70.81 мм), против 67.43 мм в примагистральных посадках. Показатель *C. almaatensis* Pojark. равный 79.80 мм является максимальным, и на 8.99 мм превышает средневзвешенную величину, на 17.55 мм опережает минимальное значение интродуктора *C. douglasii* Lindl. (62.25 мм).

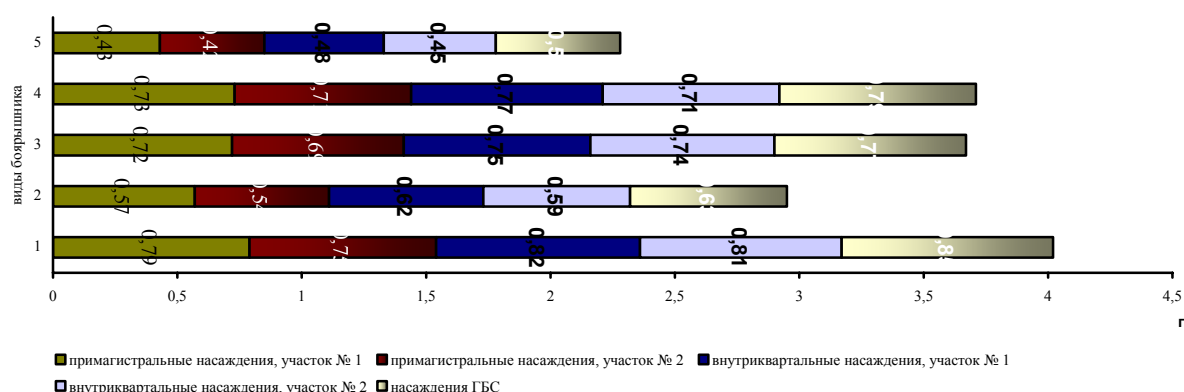
Ширина листьев местного вида *C. sanguinea* Pall. (72.65 мм) и дальневосточного *C. dahurica* Koehne (72.75 мм) по своим показателям схожа с величиной генеральной средней - 70.81 мм. Между видами, располагающимися на второй и третьей позиции ранжированного ряда, существенных различий по средним значениям не выявлено (*C. sanguinea* Pall. - *C. dahurica* Koehne). В остальных 9

случаях различия между средними величинами превышают значение $НСР_{05}$ - 2.62 мм, и, следовательно, оцениваются как существенные. Ширина листьев у боярышников со второго экоучастка (таблица 2) увеличилась в сравнении с придорожными посадками. Превышение средневзвешенных значений составляет 4.58 мм, что оценивается как существенное различие. В конкретном рассматриваемом случае лучшие показатели изучаемого признака демонстрирует местный вид *C. almaatensis* Pojark. (78.65 мм), его среднее значение на 19.8 мм выше показателя североамериканского *C. douglasii* Lindl. (58.85 мм). Существенные различия проявляются в 9 случаях за исключением варианта *C. sanguinea* Pall. (72.35 мм) и *C. dahurica* Koehne (70.25 мм), только в этом случае разность между ними оказалась меньше величины наименьшей существенной разности на 95 % уровне значимости - 2.43 мм.

Ширина листьев с эталонного участка отличается своей выраженностью. Так, например, если судить изучаемый признак по средневзвешенной величине равной 73.07 мм, то можно увидеть, что этот показатель существенно превышает показатели четырех типов насаждений двух экоучастков. Наиболее близко к этому показателю находятся значения внутриквартальных посадок Алмалинского района - 70.81 мм. По эталонному участку наиболее длинные листья образует *C. almaatensis* Pojark. - 82.15 мм, ему принадлежит и максимальная лимитная величина - 93 мм. Североамериканский вид *C. douglasii* Lindl. формирует самые узкие листья (64.15 мм). Размах варьирования средних значений составляет - 18 мм. Между *C. sanguinea* Pall. и *C. dahurica* Koehne разность средних величин незначительная, а в остальных 9 случаях разность проявляется на существенном уровне. Местный вид *C. altaica* Lge. обнаруживает самое низкое лимитное значение (51 мм).

Степень варьирования изучаемого признака находится в незначительных пределах от 5.8 % (*C. dahurica* Koehne - внутриквартальные посадки второго участка) и до 13.8 % (*C. dahurica* Koehne - эталонный участок). По шкале уровней изменчивости ширина листовых пластинок оценивается по значениям коэффициентов вариации и имеет очень низкую и низкую степень вариабельности. Точности опытов не превышают 5 % уровень, что говорит о достоверности полученных результатов.

Масса листовых пластинок. Определение массы листьев боярышников произрастающих на трех разных экоучастках и пяти типах насаждений представляет большой интерес своей значимостью, позволяя выявить экотипическую изменчивость. На основании массы листьев представляется возможным определение общей фитомассы, кислородопродуктивности растения и т.д. Материалы камеральной обработки массы листьев указывают на точности опыта находящихся в допустимых пределах, что подтверждает достоверность статистических обработок. Согласно шкале изменчивости масса листьев изменяется в незначительных пределах, и степень вариации оценивается как очень низкая, низкая и средняя.



1 - *C. almaatensis* Pojark., 2 - *C. altaica* Lge., 3 - *C. sanguinea* Pall., 4 - *C. dahurica* Koehne, 5 - *C. douglasii* Lindl.

Рисунок 3 - Сравнение показателей массы листьев боярышников

Масса листьев боярышников Алмалинского экорайона в примаргinalных насаждениях изменяется в достаточно широких пределах. Амплитуда колебания максимальных и минимальных значений составляет 0.36 г. Средневзвешенная величина равна 0.648 г. Два вида с разным географическим происхождением *C. altaica* Lge. (0.57 г) и *C. dahurica* Koehne (0.43 г) имеют средние значения меньше средневзвешенного. Причем в этом случае *C. douglasii* Lindl. демонстрирует минимальную массу листовых пластинок равную - 0.43 г, что соразмерно его линейным параметрам,

так как по длине и ширине листьев этот вид имел самые низкие показатели. Местный вид *C. almaatensis* Pojark. располагает лучшими показателями массы листьев - 0.79 г, при том, что по длине листьев вид уступал практически всем (кроме *C. douglasii* Lindl.), а по ширине был абсолютным лидером.

Таким образом, для массы листовых пластинок *C. almaatensis* Pojark. решающим фактором явилась ширина. *C. sanguinea* Pall., имея лучшие показатели по длине листьев, средние по ширине, находится в числе лидирующих по массе листьев (0.72 г), занимая третью ступень в ранжированном ряду.

На втором экологическом участке (таблица 3) экологические условия относительно хуже, что видимо и сказалось на массе листьев боярышников этого района исследований. Генеральная средняя составляет 0.622 г. Наибольшие значения массы листьев наблюдаются у *C. almaatensis* Pojark. (0.75 г), минимум по признаку обладает *C. douglasii* Lindl. (0.42 г). Разность между этими крайними значениями составляет 0.33 г, что указывает на общий диапазон варьирования средних величин исследуемых видов. Боярышники из этого типа насаждений обладают выраженными средними значениями и существенно отличаются между собой. Величина НСР₀₅, применимая к ним выявила существенные разности во всех 10 случаях сравниваемых вариантов. Лимитные значения указывают на крайние наблюдаемые варианты вариационного ряда. Так минимальное значение равно 0.32 г имеет *C. douglasii* Lindl., а минимальное - 0.89 г у *C. almaatensis* Pojark.

Масса листьев внутри кварталов из первого экоучастка несколько выше значений массы листьев примаргистральных посадок. Средневзвешенная величина составляет 0.688 г. При ранжировании боярышников по признаку оказалось, что *C. almaatensis* Pojark. с показателем массы 0.82 г занимает верхнюю сточку, на 0.34 г опережая *C. douglasii* Lindl., имеющего минимальное среднее значение - 0.48 г. Из интродуцентов наиболее выраженной массой листьев располагает *C. dahurica* Koehne (0.77 г) находясь на второй ступени рангов. Из местных видов «легкие» листья имеет *C. altaica* Lge. (0.62 г). Сравнивая средние арифметические значения пяти видов, следует указать на существенность их различий в 9 случаях, и только в варианте с местным видом *C. sanguinea* Pall. и дальневосточным *C. dahurica* Koehne разность средних значений меньше НСР₀₅ - 0.03 г. Изменчивость массы листьев по отношению к примаргистральным посадкам составляет 0.044 г (таблица 2). Ранжированный ряд указывает, что максимальной массой листьев обладает местный вид *C. almaatensis* Pojark. - 0.81 г. Относительно «легкие» листья имеет *C. douglasii* Lindl. - 0.45 г. Размах варьирования средних величин составил - 0.36 г. Среднеазиатский вид *C. sanguinea* Pall. и дальневосточный вид *C. dahurica* Koehne имеют одинаковую массу по 0.74 г., но при этом у интродуцента меньший коэффициент вариации, что говорит о большей стабильности признака и меньшую вариабельность изучаемого признака. В связи с этим при ранжировании *C. dahurica* Koehne занимает вторую позицию, а *C. sanguinea* Pall. третью. Среди рассматриваемых пяти типов насаждений наилучшие показатели имеют боярышники из эталонного участка. Средневзвешенная величина составила - 0.708 г, что резко контрастирует с аналогичными показателями двух других экологических участков и двух типов насаждений в каждом районе исследований. Абсолютное максимальное значение имеет *C. almaatensis* Pojark. - 0.85 г, а наибольшая лимитная величина этого вида составляет - 1.11 г. *C. douglasii* Lindl. демонстрирует наименьшее значение массы листьев (0.50 г), что на 0.35 г меньше максимального значения.

Как и прежде только между *C. sanguinea* Pall. и *C. dahurica* Koehne не обнаруживается существенного различия. Здесь будет уместно указать, что относительно лучшие условия произрастания создают предпосылки и для большей изменчивости признака. Так, например, в этом типе насаждений изменчивость массы листьев характеризуется в трех случаях как средняя и в двух как низкая. Подобное «зашкаливание» произошло впервые и в предыдущих четырех случаях такого скачка варьирования не наблюдалось. Причем выделившиеся растения все среднеазиатского происхождения, тогда как интродуценты стабильно демонстрируют низкую изменчивость. Значения НСР₀₅ - 0.03 г. Масса листьев варьирует значительным образом. Различия на существенном уровне обнаруживаются как внутри одного типа насаждений, так и между ними. Один и тот же вид боярышника имеет значительные пределы изменчивости. Так, например, масса листьев *C. almaatensis* Pojark. варьирует в диапазоне от 0.75 и до 0.85 г, *C. douglasii* Lindl. - от 0.42 до 0.50 г. Самым крупным по линейным параметрам и массе листьев является вид *C. almaatensis* Pojark. Сильнорослый местный вид *C. sanguinea* Pall. характеризуется средними величинами, при этом имея самые длинные листья.

Корреляционный анализ. Корреляционный анализ (таблица 2) выполнен для двух контрастных участков, отличающихся по своим эколого-климатическим параметрам.

Таблица 2 - Корреляционный анализ по линейным параметрам и массе листьев боярышников двух контрастных экоучастков

Виды боярышника	Признаки листовых пластинок			
		длина	ширина	масса
<i>C. almaatensis</i> Pojark.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.74 ± 0.104	0.65 ± 0.132
	ширина	0.74 ± 0.104		0.54 ± 0.162
	масса	0.65 ± 0.132	0.54 ± 0.162	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.35 ± 0.201	0.53 ± 0.164
	ширина	0.35 ± 0.201		0.67 ± 0.125
	масса	0.53 ± 0.164	0.67 ± 0.125	
<i>C. altaica</i> Lge.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.67 ± 0.127	0.82 ± 0.075
	ширина	0.67 ± 0.127		0.69 ± 0.119
	масса	0.82 ± 0.075	0.69 ± 0.119	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.46 ± 0.180	0.64 ± 0.136
	ширина	0.46 ± 0.180		0.63 ± 0.140
	масса	0.64 ± 0.136	0.63 ± 0.140	
<i>C. sanguinea</i> Pall.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.70 ± 0.118	0.53 ± 0.166
	ширина	0.70 ± 0.118		0.64 ± 0.136
	масса	0.53 ± 0.166		0.64 ± 0.136
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.72 ± 0.109	0.70 ± 0.116
	ширина	0.72 ± 0.109		0.78 ± 0.091
	масса	0.70 ± 0.116	0.78 ± 0.091	
<i>C. dahurica</i> Koehne	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.69 ± 0.120	0.53 ± 0.166
	ширина	0.69 ± 0.120		0.52 ± 0.169
	масса	0.53 ± 0.166	0.52 ± 0.169	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.89 ± 0.047	0.65 ± 0.133
	ширина	0.89 ± 0.047		0.59 ± 0.149
	масса	0.65 ± 0.133	0.59 ± 0.149	
<i>C. douglasii</i> Lindl.	участок № 2 - примагистральные насаждения			
	длина		0.74 ± 0.103	0.52 ± 0.168
	ширина	0.74 ± 0.103		0.57 ± 0.154
	масса	0.52 ± 0.168	0.57 ± 0.154	
	участок № 3 - эталонные насаждения			
	длина		0.59 ± 0.150	0.51 ± 0.169
	ширина	0.57 ± 0.154		0.44 ± 0.186
	масса	0.51 ± 0.169	0.44 ± 0.186	

Итак, при детальном рассмотрении данных выясняется, что тип экоучастка на взаимозависимость признаков не оказывает существенного влияния и, следовательно, для удобства будет уместным анализировать количество случаев той или иной зависимости. Общей чертой для всего корреляционного анализа является то, что выявленная зависимость носит положительный и прямолинейный характер. Разности заключаются в тесноте связи, т.е. в степени взаимозависимости.

Между длиной листа и его шириной связь сильной степени проявляется в пяти случаях из 10, а в 5 случаях связь оценивается как средняя. Между длиной листовой пластинки и его массой обнаруживается сильная связь в двух случаях, а в остальных 8 случаях средняя. Ширина листа и масса коррелирует в меньшей степени. Так сильная связь установлена в одном случае, а как средняя - в 9 случаях из 10 возможных.

Таким образом, можно говорить, что параметры листовых пластинок взаимосвязаны между собой. Увеличение одного признака оказывает прямое влияние, увеличивая в разной степени другой признак. Каждый отдельный признак влияет в средней или сильной степени на последующий.

Дисперсионный анализ. Выявленные неоднородности параметров листовых пластинок в основном обусловлены наследственными причинами, о чем свидетельствуют результаты дисперсионного анализа (таблица 3). Из полученных данных видно, что опытные критерии Фишера на 99 % уровне значимости в несколько раз превышают его табличные данные во всех исследуемых случаях. Показатели силы влияния фактора и коэффициента наследуемости в широком смысле определяют долю наследственно обусловленной изменчивости в пределах 51.6-99.6 %. На основании этих данных можно заключить, что выявленные различия по массе листьев и его линейным параметрам носят наследственный характер. Величина наименьшей существенной разности говорит о преобладающем числе случаев арифметических значений, которые оказались существенными, на что указывалось в ходе анализа каждого отдельно взятого изучаемого признака.

Таблица 3 - Дисперсионный анализ по параметрам роста и развития боярышника *C. sanguinea* Pall. на контрастных экологических участках

№ участка	Показатели	Длина	Ширина	Масса
Участок № 1 (Алмалинский район)	примагистральные насаждения			
	Критерий Фишера опытный	77.61	25.31	313.94
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.765	0.516	0.930
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.009	0.020	0.003
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.244	0.505	0.073
	Наименьшая существенная разность	2.17	2.28	0.02
	внутриквартальные насаждения			
	Критерий Фишера опытный	83.57	46.13	135.47
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.779	0.660	0.851
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.009	0.014	0.006
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.231	0.354	0.155
	Наименьшая существенная разность	2.20	2.62	0.03
Участок № 2 (Жетысууский район)	примагистральные насаждения			
	Критерий Фишера опытный	58.39	56.47	246.18
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.711	0.704	0.912
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.012	0.012	0.004
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.301	0.309	0.092
	Наименьшая существенная разность	2.87	2.36	0.02
	внутриквартальные насаждения			
	Критерий Фишера опытный	107.38	51.75	109.44
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.819	0.685	0.822
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.007	0.013	0.007
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.189	0.328	0.186
	Наименьшая существенная разность	1.97	2.43	0.03
Участок № 3 (ТБС)	эталонные насаждения			
	Критерий Фишера опытный	59.12	38.83	53.44
	Критерий Фишера табличный (0.5)	2.46	2.46	2.46
	Показатель силы влияния фактора	0.687	0.595	0.692
	Ошибка репрезентативности силы влияния фактора	0.013	0.017	0.013
	Коэффициент наследуемости в широком смысле	0.326	0.422	0.321
	Наименьшая существенная разность	2.84	3.22	0.05

Из материалов изложенных выше, можно сделать заключение, что изучаемый ассортимент боярышников характеризуется большой степенью неоднородности. Различия выявлены по трем изучаемым параметрам: длине, ширине и массе листьев. В большей степени различия характеризуются как существенные в пределах одного типа насаждений. Вместе с тем

обнаруживаются значимые различия между видами боярышника, произрастающие на контрастных экологических участках. Наибольшее воздействие комплекса экологических факторов испытывают боярышники Жетысуского экорайона, характеризующего как самый неблагоприятный в экологическом плане район г.Алматы. Из наблюдаемых типов насаждений низкие показатели имеют боярышники из примамистральных посадок. Здесь на относительно низкую результативность оказывает воздействие внешних причин: асфальтовые и бетонные покрытия, интенсивное движение автотранспорта и людей, электромагнитное излучение линий электропередач, нарушенный водно-воздушный режим почв, интенсивность и продолжительность солнечного воздействия и т.д.

Растения из внутриквартальных насаждений и ботанического сада оказались в более благоприятных условиях по сравнению с примамистральными, что сказалось на параметрах изучаемых признаков. Наиболее близкие результаты к показателям эталонного участка имеют внутриквартальные посадки Алмалинского района. Такое приближение показателей свидетельствует, что условия первого экологического участка улучшены и зависят от общего состояния административного района, который в плане загрязненности атмосферного воздуха занимает низшие ступени среди районов г.Алматы. Насаждения же ботанического сада именно потому и являются эталонными, что условия в них приближены к условиям естественного произрастания боярышников.

Литература

1 Прохоров И.А., Потапов С.П. Практикум по селекции и семеноводству овощных и плодовых культур. - М.: Колос.- 1975. - 304 с.

2 Плохинский Н.А. Биометрия. - М.: МГУ.- 1970. - 367 с.

УДК 635.25/26:632.9

Кожамкулова Ж.Ж.

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГРИБОВ РОДА *Fusarium* НА РЕПЧАТОМ ЛУКЕ В УСЛОВИЯХ ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА

(Казахский национальный аграрный университет)

*Исследования проводились в полевых и лабораторных условиях на кафедре защиты растений КазНАУ, отделе защиты плодовоовощных культур НИИЗиКР, на экспериментальных полях НИИКОБК а также в хозяйствах Алматинской области. Выделение микромицетов на агаризованной питательной среде после поверхностной стерилизации ткани из различных частей репчатого лука. Коллекция чистых культур грибов, выделенных из собранного на Алматинской области, насчитывали 41 штамма 7 видов рода *Fusarium*. А также описали культуральных и морфологических признаков и частота встречаемости данных изолятов.*

Грибы рода *Fusarium* являются гембиотрофными патогенами, обитающими на различных растениях. Многие виды этого рода наносят значительный ущерб сельскохозяйственным растениям, снижая качество и количество получаемого урожая. Возбудители фузариозного увядания относятся к числу почвенных патогенов и хорошо защищены от воздействия внешних факторов, как в сапрофитной фазе своего развития почве и на растительных остатках, так и находясь в сосудистой системе растений в период вегетации.

Наиболее широко распространенный патогенный вид из множества грибов рода фузариум на овощных культурах - *F. oxysporum shlecht*. Болезнь, вызываемая этим грибом известна под названием – корневая гниль или фузариозное увядание. Грибы своими гифами проникают в сосуды подземной части стеблей ослабленных растений и вызывают у них отмирание тканей, закупорку сосудов ксилемы и их побурение, характерное для трахеомикозного увядания.

Данный гриб поражает большой круг растений, в том числе и лук. Фузариоз лука в республике до настоящего времени не был достаточной степени изучен. Проводились исследования только Г.Н. Рябининой по изучению болезней лука в период хранения. Однако заражение растений происходит в полевых условиях, по этому необходимо особое внимание уделить изучению фузариоза в период вегетации.

В связи с этим, в течение 3^х лет нами были начаты исследования по изучению видового состава фузариоза репчатого лука в период вегетации.

Исследования проводились в полевых и лабораторных условиях на кафедре защиты растений КазНАУ, отделе защиты плодовоовощных культур НИИЗиКР, на экспериментальных полях НИИКОБК, а также в хозяйствах Алматинской области.

Выделение микромицетов проводили из разных частей репчатого лука, на агаризованной питательной среде после поверхностной стерилизации ткани. Коллекция чистых культур грибов собранного на Алматинской области, насчитывали 41 штамма 7 видов рода *Fusarium*.

Описание культуральных и морфологических признаков [1]

***Fusarium oxysporum* Schltdl. (1824).**

Культура среднерастущая, скорость роста 4.5-5.5 мм/сутки. Воздушный паутинистый, тяжистый, белый, персиковый, иногда с фиолетовым оттенком в центре колонии. Реверс – беловатый, бежевый, часто с фиолетовым оттенками. Конидиеносцы – короткие латеральные фиалиды на воздушных гифах, позднее ветвящиеся. Конидиогенные клетки- монофиалиды, короткие, бутылковидные, овальные, цилиндрические 3.7 x 2.3 мкм (3.5-4.1 x 2.1-2.6 мкм).

Макроконидии веретеновидно-серповидные, эллиптически изогнутые, тонкостенные, с постепенно и равномерно суженной апикальной клеткой, часто слегка крючковатой. Базальная клетка, как правило, с отчетливой базальной клеткой. Макроконидии с 3- 5 перегородками, образуются в воздушном мицелии и в оранжевых спородохиях. Размеры макроконидий с 5 перегородками 23 x 2.5 мкм (17.4 – 26.6 x 2.2- 3.0 мкм).

Микроконидии в основном одноклеточные иногда с одной перегородкой, овальные, эллипсоидальные, прямые до слегка изогнутых, собраны в ложные головки. Размеры одноклеточных микроконидий 3,3 x 1,45 мкм (2,3 – 6,8 x 1,3-1,65 мкм).

Хламидоспоры обильные, интеркалярные или терминальные, в воздушном мицелии, одиночные, парами или в кластерах, диаметром 4,25 мкм (3,86-4,68 мкм). (Изолят № 2).

***Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (1881)**

Культуры относительно быстрорастущие, 3.5-4.5 мм/сутки. Воздушный мицелий хлопьевидный, пушисто- войлочный, часто пленчатый, паутинистый, тяжистый, почти отсутствует. Окраска варьиабельна, от светло - до темно-серой, кремовой, серо-зеленой, иногда проявляются концентрические круги. Многие изоляты не образуют пигмент, некоторые образуют коричнево-желтоватый. Окраска реверса зависит массы спор образуемых на поверхности агара, часто покрывающей всю площадь культуры. Конидиогенные клетки только монофиалиды, часто с заметным воротничком. Конидиеносцы, на которых образуются фальшивые головки микроконидий, латерально расположены на гифах, длиной 71 мкм (31-110 мкм). Спородохимальные конидиеносцы обильно ветвятся и заканчиваются цилиндрическими монофиалидами. Спородохии и пионноты кремовые, голубовато-зеленоватые.

Макроконидии толстостенные, веретеновидно - серповидные, с одинаковым диаметром на большем протяжении длины. Обычно 3-5 перегородок. Размеры макроконидий с 3 перегородками 31.4 x 5.4 мкм (27.9 -35.8 x 4.6-6.3 мкм). Апикальная клетка – короткая, затупленная, слегка суженная. Базальная клетка закругленная.

Микроконидии овальные или удлинённые, слегка изогнутые, образуются в фальшивых головках, 0 - 1 (редко 2) перегородки, иногда отсутствуют. Размеры одноклеточных макроконидий 5.3x 2.6 мкм (3.5-7.6 x 1.7-3.8 мкм).

Хламидоспоры - как правило, обильные образуются в гифах, конидиях, терминальные, интеркалярные, одиночные, в парах, реже в кластерах, пигментированные. (Изоляты № 20, 21, 25, 31-2, 44)

***Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg. (1976)**

Скорость роста культур 3.5 -4.5 мм в сутки. Воздушный мицелий хлопьевидный, белый, бледно-розовый или серо-фиолетовый. Реверс от светлого до темно-фиолетового. Конидиеносцы вначале неразветвленные, позже ветвятся с образованием в основном ярко выраженных полифиалид.

Макроконидии образуются редко, слегка серповидные, обычно имеют 3 или 5 перегородок 47–58 x 3.4–4.5 мкм.

Микроконидии в большинстве одноклеточные, обильно образуются в воздушном мицелии в коротких цепочках и фальшивых головках, булабовидные с усеченным основанием, в основном 7–9 x 2.2–3.2 мкм, могут встречаться грушевидные микроконидии с размерами 7-11 x 4.7-7.7 мкм. Спородохии желто-оранжевого цвета.

Хламидоспоры отсутствуют. (Изоляты № 1, 3, 5, 9, 27)

***Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. (1886) (син. *Fusarium gibbosum* Appel & Wollenw. (1910))**

Колонии быстро-растущие 4.5-5 мм/сутки. Воздушный мицелий обильный, плотнопушистый, вначале белый, с возрастом приобретающий желтые, охряные, коричневые оттенки. Пигмент желто-охряный, янтарный, часто появляются коричневые пятна на реверсе.

Макроконидии толстостенные, с отчетливой дорсивентральной изогнутостью, 5-7 перегородок. Размеры макроконидий с 7 перегородками 39.9х 2.7 мкм (30.3-44.9 х 2.2-3.1 мкм). Апикальная клетка отчетливо изогнутая, вытянутая, постепенно и равномерно суженная. Базальная клетка – четко выраженная ножка.

Микроконидии не образуются. Конидиеносцы короткие, сильно ветвящиеся. Конидиогенные клетки монофиалиды на разветвленных компактных конидиеносцах.

Хламидоспоры образуются быстро, обычно интеркалярные, часто в цепочках и кластерах, с грубой оболочкой, окрашенные, коричнево- бурые. Изоляты № 28, 37

Fusarium equiseti* var. *bullatum (Sherb.) Wollenw. (1931).

Отличается от основного вида наличием макроконидий преимущественно с 3 перегородками и, соответственно, меньших размеров. Размеры макроконидий с 3 перегородками 15.1 х 3,3 (12.1-21.2 х 2.9-3.5 мкм) и 4 перегородками 17.3 х 3.4 (14.8–20.8 х 3.0–3.8 мкм). Апикальная клетка отчетливо изогнутая крючком, постепенно и равномерно суженная. Базальная клетка – четко выраженная ножка.

Микроконидии не образуются. Спородохии оранжевые, формируются в воздушном мицелии, часто скрываясь под ним. Конидиогенные клетки – монофиалиды на слабо разветвленных конидиеносцах.

Хламидоспоры образуются быстро, обычно интеркалярные, часто в цепочках и кластерах, с грубой оболочкой, окрашенные, коричнево- бурые. (Изолят № 6).

Fusarium acuminatum Ellis & Everh. (1895)

Культуры относительно медленно растущие – 1-3 мм/сутки. Мицелий густой, бархатисто-войлочный, бело-розовый, в центре карминовый, светлеющий к периферии. В центре колонии с возрастом на агаре и в воздушном мицелии формируются спородохии, ярко оранжевые, темно-кирпичные. Реверс окрашен в интенсивные карминовые оттенки, светлеющие к краю колонии. Спородохии редкие, вначале ярко оранжевые, с возрастом темнеющие.

Макроконидии толстостенные, серповидно изогнутые, дорсивентрально-вентрально изогнутые, вытянутыми, постепенно сужающимися крайними клетками – конусообразной апикальной и базальной с отчетливой ножкой. Обычно 3 - 5 перегородок. Размеры макроконидий с 3 перегородками 29.5 х 4.3 мкм (23.,5-34.6 х 3.5-5.2 мкм), с пятью перегородками 50.3 х 4.5 мкм (41.3-57.7 х 3.5-5.2 мкм).

Микроконидий обычно нет, однако в воздушном мицелии некоторых штаммов можно обнаружить конидии с 0-1 перегородками. Конидиогенные клетки - монофиалиды, с заметным воротничком.

Хламидоспоры образует, но редко, часто нуждаются в длительном периоде, интеркалярные в гифах, в цепочках или кластерах. (Изоляты № 24, 31).

Таблица 1 - Частота встречаемости видов *Fusarium* (по первичной идентификации культур грибов)

№	Вид	Секция рода <i>Fusarium</i>	Количество изолятов, шт.	Частота встречаемости, %
1	<i>F. oxysporum</i>	<i>Martiella</i>	14	38.9
2	<i>F. solani</i>	<i>Martiella</i>	6	16.7
3	<i>F. proliferatum</i>	<i>Gibbosum</i>	9	25
4	<i>F. equiseti</i>	<i>Gibbosum</i>	2	5.5
5	<i>F. flocciferum</i>	<i>Gibbosum</i>	2	5.5
6	<i>F. acuminatum</i>	<i>Discolor</i>	2	5.5
7	<i>F. equiseti</i> var. <i>bullatum</i>	<i>Liseola</i>	1	2.8
Итого:			36	99.9

Fusarium flocciferum Corda (1828)

Культуры относительно быстрорастущие, 3.5-5 мм/сутки. Мицелий бархатисто-войлочный, беловатый, розовый. Реверс имеет желто-розовый оттенок, с возрастом приобретает орехово-коричневые пятна. Конидиеносцы вначале образуются латерально на гифах воздушного мицелия, в дальнейшем ветвятся. Конидиогенные клетки – монофиалиды. Спородохии образуются редко.

Макроконидии веретеновидно-серповидные, толстостенные, с более изогнутой дорсивентральной, в основном с 3-5 перегородками. Апикальная клетка конусовидно суживающаяся,

короткая, не заостренная, часто изогнутая. Базальная клетка имеет ножку или сосочек. Размеры макроконидий с 5-перегородками в среднем 30.1 x 3.8 мкм (варьирование 22 – 38 x 3.5–5.2 мкм).

Микроконидии отсутствуют. Хламидоспоры интеркалярные, формируются быстро в гифах, в цепочках или кластерах, окрашенные, 5-7 мкм в диаметре.

Наибольшее количество штаммов относятся к видам *F. oxysporum* (38.9 %), *F. solani* (16,7 %) и *F. proliferatum* (25 %). Встречаемость остальных видов колебалась от 5,5 до 2,8 %. *F. Equiseti*, *F. flocciferum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti* var. *bullatum*.

Таким образом, объектом исследования являлись изоляты грибов рода *Fusarium*. Для получения чистых культур грибов, мы использовали агаризованные среды, обычно применяемые для работы с грибами рода *Fusarium*. Методом разведения спор, получили моноконидиальных изолятов. При пересеве исходной культуры гриба на свежую питательную среду, удалось получить живые культуры. После чего, описали культуральных и морфологических признаков и частота встречаемости данных изолятов. При микроскопировании определили 7 разновидностей грибов из рода *Fusarium*.

Литературы

1 Gerlach W., Nirenberg H. The genus *Fusarium* – a Pictorial Atlas.- Mitt. Biol. Bundesanst.- Ld. Berlin.-1982.-406 p.

Тұжырым

Зерттеу жұмыстары картоп және көкөніс-бақша дақылдары ҒЗИ-ның санаттық бақылау бекетіндегі тәжірибелік танаптарында, ҚазҰАУ өсімдік қорғау кафедрасында, өсімдік қорғау ғылыми зерттеу институтында және Алматы облысындағы жеке шаруа қожалықтарында танаптық және зертханалық бақылауда жүргізілді. Бақылау барысында әр-түрлі коректік ортада, белгілі қолайлы температурада *Fusarium* саңырауқұлағы өсіріліп зерттелді. Зерттеу нәтижесінде *Fusarium* саңырауқұлағының 41 штаммнан 7 түрі анықталып, олардың морфолого культуралды белгілері сипатталды.

Summary

On transplants sites and country farms researches were carried out in Almaty area. Allocation different kinds media agar to a nutrient medium after superficial sterilisation of a fabric from various parts of onions. A collection of pure cultures of the mushrooms allocated from collected on Almaty area, totaled 41 shtamm 7 versions of mushrooms from sort *Fusarium*. And also have described cultured signs and morphological signs of data isolates.

ӘОЖ 631.524:633.88

Мамыкова Р.У.

ТҮКТІ ОЙМАҚШАНЫҢ (*Digitalis lanata* Ehrh)
ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАНДА ӨСУ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ
(Оңтүстік Қазақстан педагогика университеті)

Мақалада жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде түкті оймақшаның тұқым өнімділігі, гүл шоғырының орналасуы осы аймақтың ауа райына, генеративті өркендерінің сандарына және қорапшадағы дәндерінің саны мен салмағына байланысты екендігі анықталды.

Өсімдік шаруашылығы саласының жаңа бағыты болып табылатын дәрілік өсімдіктер шаруашылығының маңызы зор. Нарықтық кезеңде Қазақстанда дәрілік өсімдіктер шаруашылығының алдында тұрған негізгі міндет-еліміздегі дәрі-дәрмектер өндіретін кәсіпорындардың дәрілік шикізаттарға деген сұранысын толығымен қамтамасыз ету. Өкінішке орай, қазіргі кезде республикамыздағы дәрілік заттар шығаратын өндірістік орындар еліміздің дәрі-дәрмектерге қажеттілігінің 12% ғана қанағаттандырады. ал қалған 88% шет елдерден тасымалданады [1,2].

Осыған байланысты дәрілік өсімдіктерді өсіріп, олардың биологиялық қасиеттерін зерттеп, агротехникалық жұмыстарды жүргізіп, өндіріске енгізу арқылы өзіміздің ұлттық дәрі-дәрмектерді көбейтуге болады.

Зерттеу жұмыстары Оңтүстік Батыс мал және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының тәжірибе танабы мен ОҚПУ –нің биология-химия зертханасында 2007-2009 жылдар аралығында жүргізілді.

Жалпы климат өте көп өзгергіштігімен, көп мөлшердегі жылуымен, мол жарығымен, ұзаққа созылатын жылы кезеңімен, ерте көктемде өте көп түсетін жауын-шашынмен ерекшеленеді. Жылдық жауын-шашын мөлшері 450-500 мм. Климатқа тән ерекшелік- бұл жылдық жауын-шашын мөлшерінің 80-90 пайызы күзгі-қысқы-көктемгі мезгілдерде (қыркүйек -мамыр) түсуі.

Ауаның жылдық орташа температурасы - 12,8 °С. Аязсыз кезеңінің ұзақтығы орташа 205 тәулік. Соңғы суықтар сәуір айының басында тоқтайды және қазан айының соңында қайта басталады [3].

Тәжірибе қойылатын танаптың топырағы-кәдімгі оңтүстік аймақтағы сұр топырақ, жыртылатын қабатындағы қарашірік мөлшері 1,2-1,3 %. Жылжымалы қоректік заттармен қамтамасыздануы азотпен-орташа, фосформен-әлсіз, калиймен-жақсы. Топырақтың механикалық құрамы бойынша орташа саздақты.

Зерзаттары және әдістері

Зерттеуге түкті оймақша (*Digitalis lanata Ehrh*) алынды. Тұқымның шығуын М.К.Фирсованың (1955) әдісімен анықтадық [4]. Керекті өлшеу, есептеу вегетация дәуірінің алғашқы шыққан кезеңінен, өсімдіктің соңғы құраған пісіп – жетілген кезеңіне дейін есептелінді.

Түйін байлау фазасы, гүлдеуі, жеміс салуы, шығымдылығы Т.А. Работнов. және И.Н.Бейдеманның әдістері бойынша бақыланып отырды [5,6]. Байқалған нәрселер: Өсімдік дамуының басталу және өту фазаларының уақыты, өсімдіктің биіктігі және жердің бетіндегі диаметрі, жапырақ саны, олардың формалары мен шамалары, гүл салатын сабақтар саны, сабақтағы буындар саны және олардың ұзындықтары мен формалары, түсі, гүлдердің және жемістері мен тұқымдарының көлемі. Гүл шоқтарының жеке гүлдердің морфологиясы, гүлдердің ашылу және олардың гүлдеп тұру ұзақтығы зерттелді. Гүл шоғырының сандары анықталды.

Нәтижелері және оларды талдау

Түкті оймақша екі жылдық өсімдік. Бірінші жылы ол гүлдемейді, екінші жылы гүлдері шығып оның ұрығын алуға болады. Екінші жылғы вегетациясында түкті оймақшаның бойының ұзындығы 172,7 см дейін жетеді. Өркенінің орташа саны 5, жапырағының ұзындығы 16,2, ені 2,0 см жетеді (1 сурет, 1 кесте).



Сурет 1 - Түкті оймақшаның гүлдену кезеңі

Кесте 1 - Түкті оймақшаның вегетативтік мүшелерінің негізгі морфологиялық көрсеткіштері

Бойы (см)	P ₁	P ₂	Өркендерінің саны, дана	Жапырағының өлшемі, см	
				ұзындығы	ені
172,7±4,2	70,0±0,9	71,0±0,7	5,0±0,8	16,2±1,2	2,0±0,2

Бұл өсімдіктің ұрығы өте майда, қоңыр түсті, дөңгелек формалы. Зертханалық жағдайда 5 күннен кейін ол өне бастайды, өнгіштігі 28 % құрайды. Ең жоғарғы өнгіштігі 9-шы күні байқалады - 90% (2 сурет).

Бұрынғы кезде бұл өсімдіктің жабайы түрі Молдованың орманды жерінде табылған. Қазіргі кезде оның мәдени түрі өсіріле бастады. Бұл өсімдік кейіннен дәрілік маңызы бар екені анықталды.

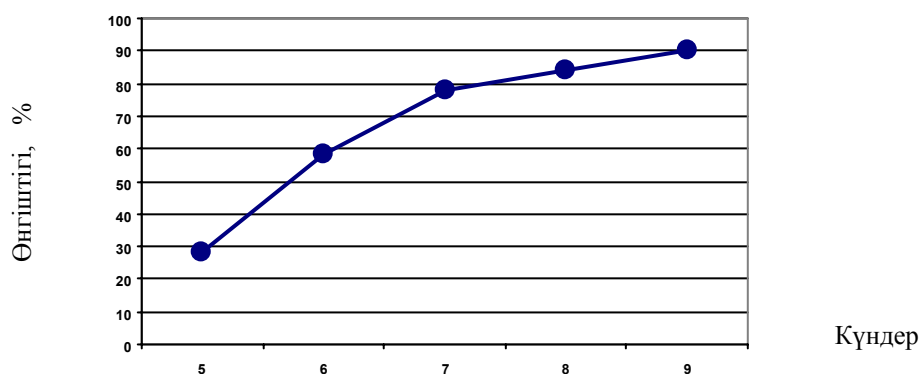
Түкті оймақшаның жапырағының құрамында целанид және дигоксин ланатозид А және С, ланатоксин, дигиталинум және верум кездеседі. Корикола өндірісінде жапырағын өндіру арқылы көптеген дәрілер шығарады. Бұл өсімдік адам өмірі үшін өте маңызды. Қазіргі кезде елімізде жүрек аурулары, жүрек қалқаншаларының дұрыс жұмыс істемеуі және талма аурулары көбею үстінде. Түкті оймақша өсімдігі аталып өткен ауруларға емдік қасиеті, яғни және оған деген сұраныс өте жоғары.

Жоғарыдағы кестеде көрсетілгендей, яғни түкті оймақша гүлі қорапшасының жоғарғы жағында 100,9, ортаңғы жағында 133,2, ал төменгі жағында 149,8 дана дән алуға болады. Қорапшада ең көп орналасқан дәндер гүлшоғырының төменгі жағында шоғырланады.

Кесте 2 - Қорапшаның орналасуына қарай түкті оймақшаның 1000 дана ұрығының мөлшері мен салмағы

Қорапшаның гүл шоғырында орналасуы	Дәннің саны, дана	1000 дәннің салмағы, г
жоғарғы	100,9	0,37
ортасы	133,2	0,45
төменгі	149,8	0,51

Суғармалы алаңқайда түкті оймақшаны ғылымда және практикада келешегі зор дәрілік дақыл деп есептеуге болады. Төменгі қорапшалардың ұрықтық өнімділігінің жоғары болуын және ұрықтардың салмағының ауырлығын есепке ала отырып, ұрықты жинау гүл шоғырының жоғары жағындағы қорапшаларының пісуін күтпестен, төменгі бөлігінен жинай бастау керек.



Сурет 2 - Түкті оймақшаның тұқымының зертханалық өнгіштігі

Сонымен қорыта келе түкті оймақша дәрілік өсімдігі Оңтүстік Қазақстан аймағында жақсы өседі. Барлық онтогенездік кезеңдері жақсы жүрді. Тұқым өнімділігі гүл шоғырының орналасуы осы аймақтың ауа райына, генеративті өркендерінің сандарына және қорапшадағы дәндерінің саны мен салмағына байланысты екендігі анықталды.

Әдебиеттер

- 1 Адекенов С.М. Современное состояние и перспективы производства отечественных фитопрепаратов и биотехнологической продукции для медицины //Фармация Казахстана.- 2003.- №2. - С.21-22
- 2 Итоги деятельности органов и организаций здравоохранения в 2002 году и задачи на 2003 год //Фармация Казахстана.- 2003.- №3.- С.3-6
- 3 Пузырева А.А. Климатическое районирование Южного Казахстана.- Алма – Ата: Наука.- 1975.- С.4–6
- 4 Фирсова М.К. Методы исследования и оценки качества семян.- М.- 1955.- 365 с.
- 5 Работнов Т.А. Методика изучения семенного размножения травянистых растений в сообществах //Полевая геоботаника.- Т.2 - М.: Изд-во АН СССР.- 1960.- С.20-40
- 6 Бейдеман И.Н. Методика изучения фенологии растений в растительных сообществах. Новосибирск.-1974. – 154 с.

Резюме

В результате исследований установлено, что у наперстянки шерстистой семенная продуктивность зависит от погодных условий сезона, в которых формировались семена, количества генеративных побегов, а также от положения коробочек в соцветии и количества и веса семян в них.

Summary

In the result of researches established that at digitalis lanata Ehrh woolly seed efficiency depends on weather conditions of a season in which seeds were formed, quantities generatish runaways, and also from position of boxes in an inflorescence and quantity and weight of seeds in them.

ӘОЖ 581.4:633.88

Мамыкова Р.У.

Echinacea angustifolia L. МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ МЕН АНАТОМИЯЛЫҚ ҚҰРЫЛЫСЫ

(Оңтүстік Қазақстан педагогика университеті)

Оңтүстік Қазақстанда ең алғашқы рет жіңішке жапырақты эхинацеяның генеративті және вегетативті мүшелеріне морфологиялық және анатомиялық зерттеулер жүргізілді.

Мемлекетіміздің егемендік алуы ғылымдардың дамуына, оның ішінде еліміздің табиғи байлығын зерттеп, өндеуге шексіз мүмкіндік туғызды.

Нарықтық жағдайда мемлекетіміздің экономикасын көтеруге және жаңа өндірістердің даму кезеңінде еліміздің өсімдік ресурстарын пайдалануға шексіз талап қояды.

Қазіргі кезде, фармацевтика өндірісінде дәрілік шикізаттың жетіспеушілігі күрделі мәселе болып отыр. Себебі барлық өндірістер негізінен шет елдік шикізатты пайдалануға бейімделген [1].

Дәрілік өсімдіктерге деген сұранымның ұлғаюына байланысты оны жинау, жерсіндіру, кешенді түрде зерттеу және келешекте дәрілік өсімдіктерді дұрыс өндеу жұмыстары маңызды мәселе болып табылады.

Оңтүстік Қазақстанның табиғи байлығы және ауа-райының жылылығы көптеген құнды дәрілік өсімдіктерді өсіруге мүмкіндік береді. Түрлі емдік қасиеті бар өсімдіктерге сұраныс ұлғаюына байланысты оларды жинап, жерсіндіруді кешенді түрде жүргізу керек және келешегі барларын сұраныс өсе түседі. Адамзат денсаулығына өте маңызы зор дәрілік өсімдіктер қатарына жіңішке жапырақты эхинацея (*Echinacea angustifolia* L.) бірден-бір қажет өсімдік.

Зерзаттары және әдістері

Оңтүстік Қазақстанда «Оңтүстік-Батыс ауыл шаруашылығы ғылыми-зерттеу өндірістік орталықтың» дәрілік өсімдіктерді жерсіндіру бөлімінде жіңішке жапырақты эхинацея 2004 жылдан бастап өсірілуде.

Дәрілік шикізаттардың шығу тегін анықтау мақсатында макро және микроскопиялық талдаулар жүргізілді. Микроскопиялық талдаулар дәрілік өсімдіктердің майдаланған түрлерін анықтау үшін негізгі әдіс болып табылады. Ол, өсімдіктің анатомиялық құрылымын зерттеуге негізделген. «Ботаника» ҒҰО. ҒА. Өзбекстан Республикасындағы зертханасымен бірлесе отырып, жіңішке жапырақты эхинацеяның анатомиясын, морфологиясын зерттедік.

И.Г. Серебряков (1952), Ал А.Федоров т. басқалардың еңбектерінде өсімдіктердің генеративтік және вегетативтік мүшелерінің морфологиялық сипаттары тірі материалдарда көрсетілді (1975, 1979) [2,3,4].

Анатомиялық зерттеу мақсатында материал шілде – тамыз айларындағы өсімдіктен алынды 70% этил спиртіне салынып, жапырағының, сабағының, тамырының орта бөлшектері алынды. Анатомиялық кесінділер М.Н.Прозинаның әдістемесі бойынша жасалынды [5].

Нәтижелері және оларды талдау

Эхинацея туысының 5 түрі бар, 2 түрі Мексикада, 3 түрі Солтүстік Америкада [6]. Бұл түрді бірінші болып К. Линней 1753 жылы – Рудбекия пурпурная – *Rudbekia purpurea* деген атпен анықтады, 1794 жылы К. Моенх деген ғалым эхинацеяны жеке түрге бөлді, гүлінің сондай әсемдігі, қатты тікенекті ұрығына қарап «эхинацея» деген атпен жариялады. «Echinos» - «тікенек» ағылшыннан аударғанда тікенек немесе кірпі деген мағынаны береді. Медицинада 3 түрі, *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *E. pallida* (L.) (Nutt) және *E. angustifolia* (L.), бұлар күрделі гүлдер тұқымдасына *Asteraceae* Dumort жатады. Таралуы: Солтүстік Американың субтропикалық белдеуінде және Қазақстанда, Украинада, Солтүстік Кавказда жерсіндіріліп, өсірілуде [7].

Жіңішке жапырақты эхинацея көп жылдық шөптесін, өсімдік бойы 60-120 см. Сабағы қалқанша тәрізді, гүлшоғыры ұсақ себетті. Себеттері 5 мм-ге дейін болады, 5 ақшыл ашық және қызғылт түсті, тілімделген, 14-20 сары, ақ түтікшелі гүлдерден тұрады, жемісі тұқымша. Шілде айларында гүлдеп, қыркүйек айларында өсіп-пісіп жетіледі. Тамыры өте тереңге бойлап өсетін, қуатты жуан, ұзын, жан-жағына жанама тамырлар шығарады. Біздің сұр түсті боз топырақта өскен жіңішке жапырақты эхинацеяның тамыры 1-ші жылы – 40-55 см, 2-ші жылы – 95-68 см, 3-ші жылы – 98-105 см тереңдікке дейін өседі.

Жанама бұтақтары онша көп емес, жапырақтары ұзынша, өте түкті, ақшыл, сұр, жасыл түсті, ал түпкі бұтақшалары қоңыр-қызғыш түсті. Жанама бұтақшалары 15-30⁰ орналасады. Орта тұста жанама бұтақшалары көп болады.

Жапырақтары түкті, ұзын-жіңішкелеу болып келеді. Ені – 4,5-5,5 см, ұзындығы – 8,0-17,0 см. Жапырақтың астыңғы жағы 5 қатарлы жүйкеленген. Бұтақтың астыңғы жағынан жоғарға қарай жапырақтар саны азайып, ені мен ұзындығы қысқара береді, жоғарғы жағында жіңішкеріп, үшкірленген кішкене жапырақша болып қалады. Гүлі әр бұтақшада 3-5-1 дана гүл шоғыры болады. Шақталмаған, ұзын бұтақта гүлшоғыры майда, түсі қызыл, ені – 12 см, диаметрі – 7-4 см болады (1 сурет).



Сурет 1 - Жіңішке жапырақты эхинацеяның гүлдеу кезеңі

Ұрығы жартылай шар тәрізді, тікенді, қатты, қанық қоңыр түсті, үш қатарлы, ұрықтың қауашағындағы жапырақтары ланцет түрінде, әр қатарда 10-18 дана, ұрық үстіндегі үшкірлі үсті-үстіне орналасқан, түктер қаптаған, ұзындығы – 0,8-1,6 см, ені – 0,2-0,4 см.

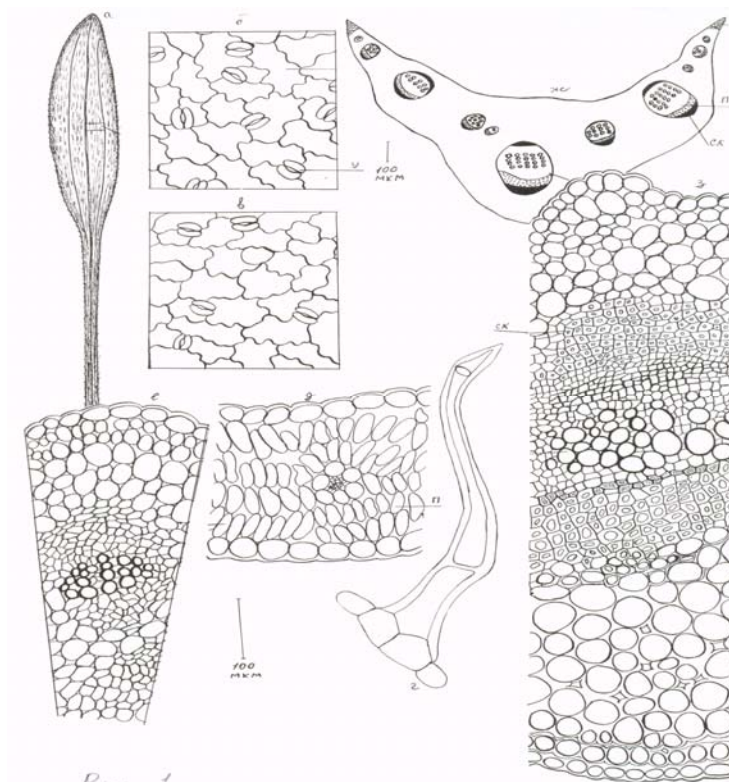
Гүлдеп болған соң ұрық қауашағы өте тығыз ұрықтарға толы, сыртынан қатты тікенекті қауашақпен қоршалған, ашық қоңыр түсті. Ұрығы жіңішке тілше тәрізді, үстінде 2-3 тілшелерден, 10-20-дай ортасында өте тығыз көп орналасады. Әр шұңқыршада бір-бірден ұрықтар орналасқан, ені – 0,4-0,3 мм, ұзындығы – 4,5-5 мм.

Тозаңы ашық-сары түсті. Ұрығы төрт түрлі, сұр-қоңыр түсті. Ұзындығы – 5-6 мм, жоғарғы жағы енділеу, төмен қарай еңсіз болып келеді, 1000 дәннің салмағы – 4,0 г.

Өз отанында шілде айында гүлдейді, ал бізде, Шымкентте маусым айының басынан тамыз айына дейін гүлдейді, қыркүйек, қазан айларында ұрығы пісіп-жетіледі.

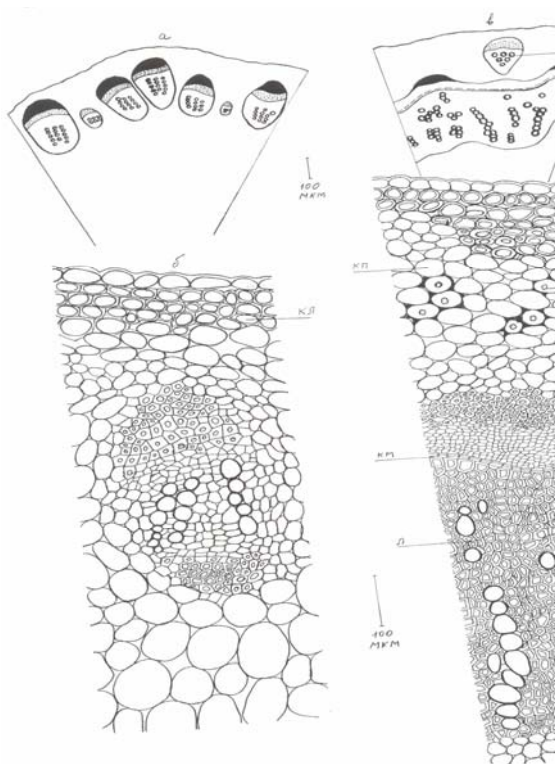
Күнгірт эхинацея Қазақстанда зерттелген бірінші рет. Жапырақ жалпақтығы 12 см, ұзындығы 2 см, көлденеңі – 15 см сағақта орналасқан. Жапырақтың негізі созыңқы, әлсіз қырлы болып келеді. Жүйкеленуі қауырсын қанатты. Жіпшелері жан-жаққа шашыраңқы. 3 жіпше жүйкесі көзге көрініп тұр: 1 – бастысы және 2 бүйірлік ірісі бір бірімен параллельді орналасқан, салбырап көп жасушалы түктермен байланысып 2 жасушалы аяққа орналасқан (2 сурет а, б). Жоғарғы эпидерманың жасушалары жіңішке сала-сала, изодиаметрикалық болып, иректелген қабырғалардан тұрады. Көлденең кесіндісінде жоғары (30,5 мкм) (2 сурет). Лептесіктерінің саны көп болады, аномициттік, гемепарациттігі сирек, дөңгелек сәл сопақша болып келеді, ұзындығы 34 дм.км. көлденеңі 21 мкм. Эпидерманың төменгі жасушалары майдалау, бірақ қалың (37,9 мкм) болып, сала-сала және қабырғалары қатпарланып тұрады (2 сурет б). Лептесіктері сопақша, майда, жоғарғы эпидермамен салыстырғанда, аномоцитті, сирек гемипарацитті, батып кетпеген болады. Жапырақ мезофиллі изолатералды – қоршалған 2 қатар жасушалармен жоғарғы бетінен және 1-2 төменгі жағынан қоршалған. Бағаналы жасушалар борпылдақ болып орналасқан (2 сурет д). Жапырақтың ірі талшықтары жоғарғы жағынан аздаған шығыңқы келіп, ал төменгі жағынан одан да артығырақ

болады. Өткізгіш шоқтары коллатералды, бірақ шелденбеген, олар 3-4 тізбек тамырлардан және флоэмадан тұрады. Олардың үстінде және астында жүретін паренхима болады. Майда тамырлар да паренхимамен қоршалған (2-сурет е). Жапырақтың негізгі түрі көлденең кесіндіде орақ тәріздес болып 1- алғашқы 2- бүйірлік және 8-9 майда тамырлармен қосылып паренхимамен қоршалып тұрады. Оларда 20-30 ірі тамыр және 10-15 майда тамыр болады. Флоэманың саны көп болмайды. Жапырақ қанатшасы колленхима жасушалар тобынан тұрады (2 сурет ж.з). Сабақтың жоғарғы бөлігі жұмсақ, шөп тәріздес бір қатарлы хлорофиллді эпидермадан тұрады. Қабықтың сыртқы 4-5 қабаты да хлорофиллді. Сабақтың негізі паренхималы боп келеді. Өткізгіш системасы коллатералдық шоқтардан тұрады. Периметрлері бойынша бір орамда әр түрлі шамадағы 25-30 шоғыр болады. Олар 10-15 тамырдан және талшықтанған мардымсыз флоэмадан тұрады, шоғырдың сыртын да склеренхималар қаптап тұрады (3 сурет а.б). Сабақта эпидерма және алғашқы қабық сақталады. Эпидерманың төменгі жағында 2-3 қатар колленхима жасушалары болады. Қабықшада секреторлық каналдар орналасқан. Кей кездерде қабықтың кішірек өткізгіш шоғырлары кездеседі, олар тамырлардан, флоэма және перициклді талшықтардан тұрады. Бұл жағдайларды С.Р.Мetcalfe, L.Chalk (1950) еңбектерінен көруге болады [8]. Флоэманың үстінгі жағында негізгі шоғырлар және перициклді талшықтар орналасқан. Ағаштың дөңгелек діні, ірі тізбекті болып орналасқан тамырларды, либриформды, вазирорталықта ағаш паренхимасын құрайды. Радиалдық сәулелер бірқатарлы болады (3 сурет. в, г). Өзектерінің қабырғасы қалың болып 5-6 қырлы жасушалардан тұрады. Кіндік тамыр жоғарғы жағы жуандаған, төменге қарай аздаған бүйірлік жанама тамырлардан тұрады. Көпжылдық тамырлар қабықпен жабылған. Қабықта ірі каналдар орналасқан, олардың ішінде эпидермалды жасушалар бар. Олардың айналасы түсі қара сұйықтық заттар құрайды. Екі жылдық тамырдың ксилемасы айнала майда тамырлармен және паренхима мен шырынды каналдардан түзілген.



а-сыртқы көрінісі; б- жоғарғы эпидерма;
в- төменгі эпидерма; г-трихома; д- жапырақ тақтасының
көлденең кесіндісі; е-негізгі жүйке; ж- жапырақ негізгі
тақтасының үлгісі.

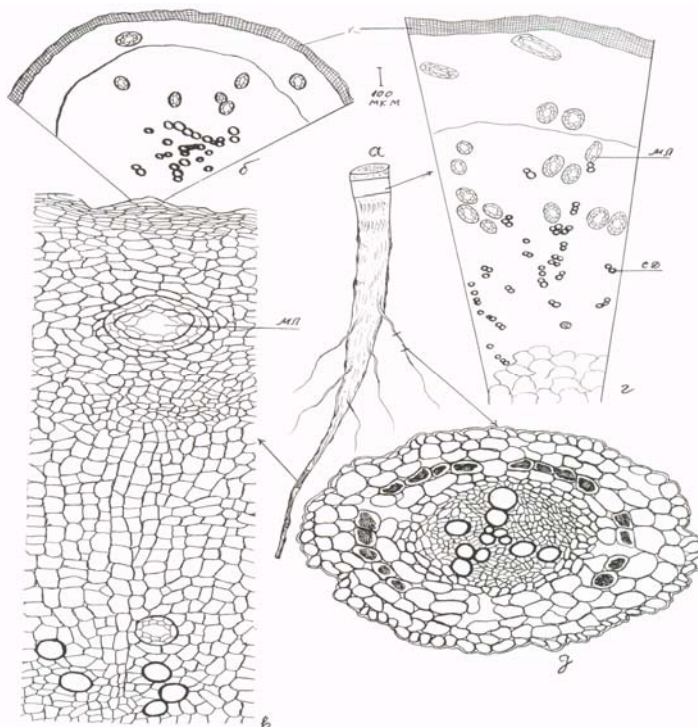
**Сурет 2 – *E. angustifolia* L. жапырағының
анатомиялық құрылысы**



а,б –жоғарғысы; в,г – негізгі.

**Сурет 3 - Сабақтағы ұлпаның орналасу
үлгісі**

Радиалдық сәулелер көрінбейді (4 сурет). Бүйірлік жанама тамырларда қабық, сүтті каналдардан, орталықтағы тамырлардан және көптеген паренхимадан тұрады (4 сурет). Майда жіпше тамырлар 4 қатарлы ірі жасушадан және ортадағы майда топ тамырлардан тұрады. Тамыр жүйесінің құрылымы, қоректік заттар мен сүтті шырындарды жинауға арналған, бұл паренхималық және каналдармен қамтамасыз етеді.



а-сыртқы көрінісі; б,в – тамырдың төменгі бөлігі; г- негізгі бөлігі; д- жіпше тамырлар
В-талшықтар, К-өзегінің құрылысы, КЛ-колленхима, КПП- қабықтық паренхима,
Л-либриформ. СК- шырынды каналдар, ӨШ- өткізгіш шоқ, Т- түтікше, СК-склеренхима

Сурет 4 - *Echinacea angustifolia* L. тамырының анатомиялық құрылысы

Сонымен қорта келе жіңішке жапырақты эхинацея дәрілік өсімдігі Оңтүстік Қазақстан аймағында жақсы өседі. Оны күңгірт түсті эхинацея сияқты шаруашылыққа енгізуге болады.

Әдебиеттер:

- 1 Доскалиев Ж.А. *Итоги деятельности органов и организаций здравоохранения в 2002 году и задачи на 2003 год* //Фармация Казахстана.- 2003.- № 3. - С.3- 6
- 2 Серебряков И.Г. *Морфология вегетативных органов высших растений.* – М.: Советская наука.- 1952. 391 с.
- 3 Федоров А.А., Кирпичников М.Э., Артюшенко З.Т. *Атлас по описательной морфологии высших растений. Цветок.* –Л.: Наука.-1975.–352 с.
- 4 Федоров Ал. А., Кирпичников М.Э., Артюшенко З.Т. *Атлас по описательной морфологии высших растений. Соцветие.* –Л.: Наука.- 1979.- 294 с.
- 5 Пролина М.Н. *Ботаническая микротехника.* - М.: Высшая школа.- 1960. – 206 с.
- 6 Флора СССР. - М., Л.: Изд-во АН СССР.- 1958.- Т. 23. - 755 с.
- 7 Баймухамбетов М.А. *Целебные растения.* – Шымкент. 1995. С. 63 – 183.
- 8 Metcalce C.R., Chalk L. *Anatomy of dicotyledons.*-Oxford.-1950.-№2.- P.782-804

Резюме

Впервые в условиях Южного Казахстана проведены морфологические и анатомические исследования эхинацеи узколистной.

Summary

For the first time in conditions of Southern Kazakhstan carried out morphological and anatomic researches of two kinds *Echinacea angustifolia* L.

Бисенбаев А.К., Алтыбаева Н.А., Мусина А.А., Тайпакова С.М.
ЭФФЕКТ АСИДИФИКАЦИИ ИНКУБАЦИОННОЙ СРЕДЫ НА СЕКРЕТОРНУЮ И
АНТИОКСИДАНТНУЮ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ СИСТЕМУ АЛЕЙРОНОВОГО СЛОЯ
ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ

(Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии
Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Выявлена важная роль значения pH в гормонозависимой регуляции активности гидролитических и антиоксидантных ферментов алейронового слоя зерна пшеницы. Показано, что клетки алейронового слоя действительно усиливают процессы асидификации внеклеточной среды под действием гибберелловой кислоты (ГК). Установлено, что эффект ГК как по отношению к альфа - амилазе, так и супероксиддисмутазе существенно увеличивается тогда, когда pH инкубационной среды имеет нейтральное значение. Высказано предположение о том, что для формирования полного клеточного ответа необходимо взаимодействие гормона (ГК) с рецептором только для инициации последующие, дистальные этапы реализации гормонального эффекта.

Эндосперм злаков представляет собой триплоидную ткань, которая образуется в результате слияния спермии с центральной клеткой зародышевого мешка. Эндосперм ячменя через 8-10 дней после опыления дифференцируется на крахмальный эндосперм и алейроновый слой. Во время прорастания семян алейроновые клетки синтезируют и секретируют ферменты, катализирующие гидролиз запасных полимеров эндосперма, обеспечивая тем самым питание зародыша. Индукция синтеза этих гидролаз зависит от присутствия в ткани гибберелловой кислоты (ГК) [1,2]. Показано, что значение pH крахмального эндосперма играет важную роль в процессах прорастания и формирования зерна злаковых. Установлено, что процесс деградации эндосперма происходит при кислом значении pH. Показано, что большая часть гидролаз (α -амилаза, некоторые протеиназы и др.) участвующие в мобилизации запасных полимеров эндосперма проявляют оптимальную активность при кислом значении pH (4,2-5,0) [3,4]. Транспорт и утилизация щитком продуктов гидролиза запасных полимеров эндосперма так же происходит при кислом значении pH.

Ранее *in situ* окрашиванием крахмального эндосперма показано, что процесс асидификации эндосперма в условиях *in vivo* происходит во время прорастания зерна [5, 6].

Известно, что антиоксидантные ферменты такие как супероксиддисмутаза (СОД) и аскорбатпероксидаза (АРХ) играют важную роль в регуляции функциональной активности алейроновых клеток зерна злаковых [7]. Установлена строгая корреляция между сроком наступления программированной гибели клеток алейронового слоя, генерацией активных форм кислорода и изменением активности антиоксидантных ферментов. Выявлена важная роль активных форм кислорода и антиоксидантных ферментов в реализации гормон - регулируемой программированной гибели клеток алейронового слоя зерна пшеницы.

Однако, в настоящее время практически отсутствуют данные о роли pH внеклеточной среды на фитогормон регулирующую активность антиоксидантных ферментов алейронового слоя зерна пшеницы.

Материалы и методы

В исследованиях использовали семена пшеницы (*Triticum aestivum*), сорта Казахстанская 4. Семена с удаленными зародышами стерилизовали в 1% гипохлориде натрия в течение 10 мин, и несколько раз промывали дистиллированной водой. Беззародышевые половинки семян помещали в чашки Петри, содержащие 100 г стерилизованного песка и, замачивали в 20-25 мл деионизированной воды. Прединкубацию половинок семян проводили в течение двух дней при 25⁰ С в темноте. Алейроновые слои отделяли от эндосперма шпателем, несколько раз промывали деионизированной водой и инкубировали (10-15 алейроновых слоев на 2 мл) в зависимости от условия эксперимента в следующих буферах: 0,02М ацетатный буфер (pH 5.0); 0,02М натрий фосфатный буфер (pH 6.0, 7.0) и 1 мкМ ГК и/или 5 мкМ АБК. В контрольных вариантах ГК и абсцизовую кислоту (АБК) исключали из среды инкубации. Измерение pH инкубационной среды проводили с помощью специального наконечника электролитического контакта, в объеме 0,5-2 мл на иономере 75 М. Активность альфа-амилазы определяли по методу Шустера и Гиффорда [8].

Электрофоретическое фракционирование изоферментов супероксиддисмутазы (СОД) проводили в трис - глициновом буфере (рН 8,9) при 4⁰С (напряжении 100V) в 7% полиакриламидном геле (ПААГ). Выявление активности СОД проводили следующим образом: после электрофореза гель инкубировали в растворе нитротетразолиевого синего (2,5мМ) в течение 20 минут. Затем - в калий фосфатном буфере (рН 7,8) в течение 15 минут, содержащем 20мМ тетраметилэтилендиамид (ТЕМЕД), 28мкМ рибофлавина. Зоны активности СОД проявляли после освещения геля лампой (25Вт).

Результаты и их обсуждение

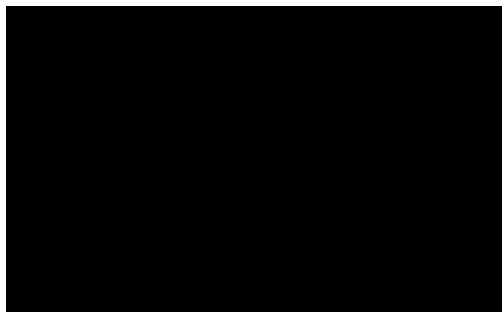
В первоначальных экспериментах мы изучали влияние ГК и АБК на изменение внеклеточного значения рН (рН_е) алейронового слоя зерна пшеницы. Как видно из рисунка 1 в контрольных экспериментах значение рН инкубационной среды составило – 5,1. Инкубация изолированного алейронового слоя с 10⁻⁶ М ГК в течение 48 часов, привела к существенному снижению рН_е (4,65). При этом внесение только АБК в дозе 5х10⁻⁶ М не оказывало существенного влияния на асидификацию инкубационной среды (рис.1-3).

Эти данные указывают на важную роль алейронового слоя и ГК в асидификации внеклеточной среды.

Ранее было высказано предположение о том, что ГК регулирует функциональную активность алейроновых клеток через рецепторы находящиеся на плазматической мембране. Однако до сих пор нет достоверных данных о месте локализации рецептора ГК.

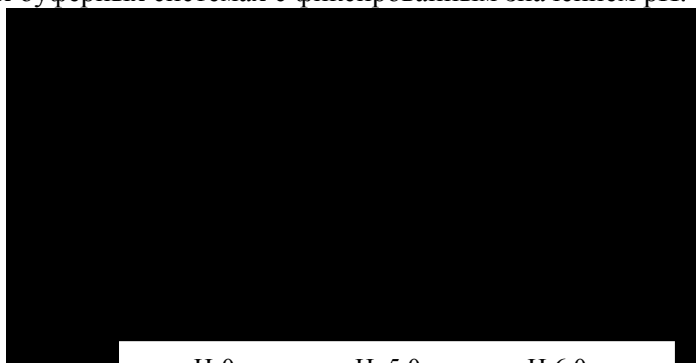
ГК является слабой гидрофобной кислотой дитерпеноидной природы со значением рK_а 4 - 4,2 . При кислом значении рН среды ГК в основном находится в протонированной форме. В этих условиях, вероятность пассивного транспорта ГК через плазматическую мембрану клеток алейронового слоя выше. При нейтральном значении рН среды ГК депротонирована и имеет отрицательный суммарный заряд, что полностью исключает пассивный транспорт ГК.

Эти данные указывают на важную роль рН среды в координации взаимодействия фитогормона с рецептором на плазматической мембране. Одним из возможных подходов в изучении роли и вклада рН_е в ГК стимулированной секреции альфа -амилазы могло бы явиться регистрация эффекта данного фитогормона в определенных буферных системах с фиксированным значением рН.



1-контроль; 2-ГК(10⁻⁶ М); 3-АБК(5х10⁻⁶ М)

Рисунок 1 - Действие фитогормонов на асидификацию инкубационной среды клетками алейронового слоя зерна пшеницы



H₂O рН 5.0 рН 6.0

Рисунок 2 - Эффект значения внеклеточного рН на фитогормональную регуляцию амилазосекретирующей активности алейронового слоя зерна пшеницы

Для выяснения этого вопроса мы исследовали зависимость эффекта ГК на секрецию α-амилазы от использованных в качестве инкубационной среды буферных систем(0,02М ацетатный буфер, рН 5.0; 0,02М натрий фосфатный буфер, рН 6.0 - 7.0).

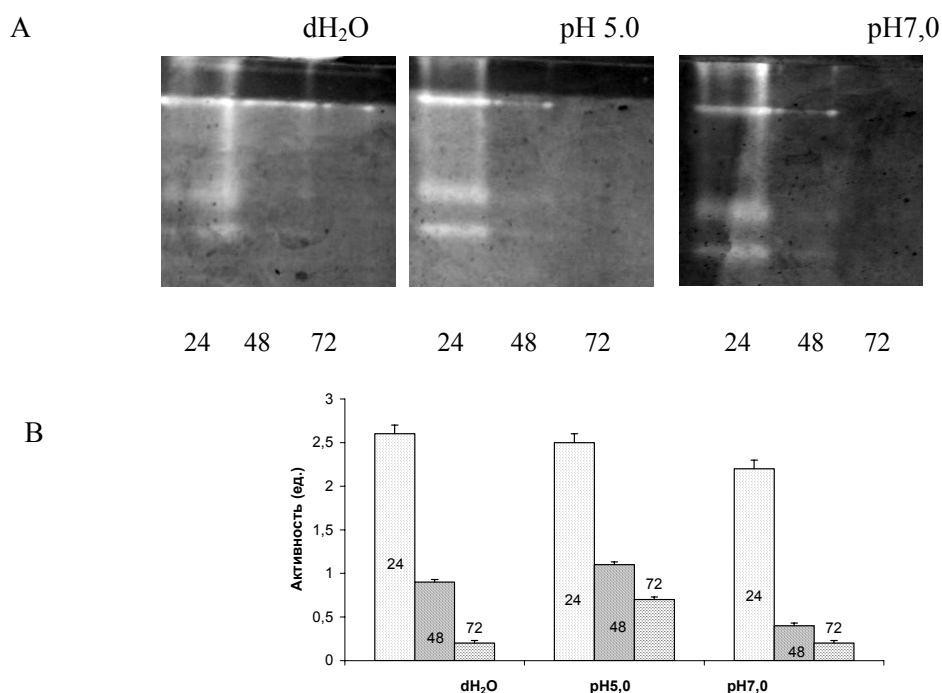
Результаты этих экспериментов показали, что инкубация изолированного алейронового слоя в дистиллированной воде, в присутствии ГК(1мкМ) в течение 48 часов приводит к увеличению активности секретированной альфа - амилазы на 60% по сравнению с контролем (рисунок 2). При инкубации ткани в буферных системах со значением рН 5 и 6 в течение 48 часов существенных различий в гормонозависимой активации секретированной α-амилазы (65-75% , соответственно), по сравнению с предыдущими условиями эксперимента обнаружено не было (рисунок 2). При этом внесение АБК в дозе 5мкМ к инкубируемым, вышеуказанным условиям, тканям тормозило ГК зависимую секрецию альфа - амилазы до уровня контроля. Незначительный эффект АБК на ГК стимулированную секрецию фермента наблюдалось при значении рН инкубационной среды - 6.

Как отмечалось выше, ГК в алейроновых клетках злаковых значительно подавляет активность антиоксидантных ферментов таких как, супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза и др. [9]. Следовательно, действие ГК в данной модельной системе, наряду со стимуляцией секреции альфа - амилазы, направлено на подавление активности антиоксидантных ферментов.

Каков эффект pH_e на действие ГК на активность супероксиддисмутазы в алейроновом слое зерна пшеницы?

Инкубации изолированного алейронового слоя в присутствии ГК в дозе 1мкМ в течение 48 часов, приводило к существенному снижению активности СОД в ткани по сравнению с контролем при всех использованных значениях pH инкубационной среды (рисунок 3).

Инкубация изолированного алейронового слоя в дистиллированной воде, в присутствии ГК (1мкМ) в течение 48 часов приводило к снижению активности супероксиддисмутазы приблизительно на 70% по сравнению с контролем (рис.3В). Через 72 часа инкубации с ГК, активность супероксиддисмутазы почти исчезла. При инкубации ткани в буферных системах со значением pH 5 в течение 48 и 72 часов приводило к снижению активности на 52% и 72% соответственно.



А – Эффект значения pH_e на изоферментный спектр супероксиддисмутазы

В – Действие pH_e на активность супероксиддисмутазы

Рисунок 3 - Эффект значения внеклеточного pH на

ГК зависимое изменение активности супероксиддисмутазы алейронового слоя зерна пшеницы

Наиболее существенный эффект ГК по отношению к супероксиддисмутазе наблюдалось при инкубации ткани при значении pH инкубационной среды равной к 7 . В этом случае гормонозависимое снижение активности фермента при инкубации ткани в течение 48 и 72 часов достигало 84% и 92% соответственно. Выявление зон активности фермента на электрофореграмме при гистохимической окраске во всех исследованных условиях показали сходные качественные результаты. При этом максимальный ингибирующий эффект ГК на активность изоферментов супероксиддисмутазы приходилось на 72 часов инкубации, в этих случаях активность изоферментов не обнаруживалась на электрофореграмме (рис.3А).

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствует о том, что клетки алейронового слоя действительно усиливают процессы асидификации внеклеточной среды под действием ГК. При этом чувствительность алейроновых клеток зерна пшеницы по отношению к ГК как по отношению амилазы, так и антиоксидантных ферментов существенно увеличивается тогда,

когда pH инкубационной среды имеет нейтральное значение. Эти данные позволяют предположить, что для формирования полного клеточного ответа необходимо взаимодействие гормона (ГК) с рецептором только для инициации последующие, дистальные этапы реализации гормонального эффекта.

Литература

- 1 Бисенбаев А.К., Тауров М., Берсимбаев Р.И. Участие синтеза белка и стимулирующего действия гибберелловой кислоты на секрецию амилазы из изолированного алейронового слоя зерна пшеницы // Биохимия.- 1992-т.57, вып.12, с.1834-1840
- 2 Bethke P. C., Schuurink R and Jones R. L., Hormonal signaling in cereal aleurone // J. Exp. Bot., 1997, v. 48, p. 13337-13356.
- 3 Hamabata A., Garcia-Maya M, Romero T, Bernal-Lugo Y. Kinetics of the acidification capacity of aleurone layer and its effect upon solubilization of reserve substances from starchy endosperm of wheat// Plant Physiol., 1988, v. 86, p. 643-644.
- 4 Drozdowich Y.M., Jones R.L. Hormonal regulation of organic and phosphoric acids release by barley aleurone layers and scutella// Plant Physiol., 1995, v. 108, p. 769-776.
- 5 Domingues F. And Cejudo F.J. Pattern of starchy endosperm acidification and protease gene expression in wheat grains following germination// Plant Physiology, 1999. V. 119, p. 81-88.
- 6 Алтыбаева Н.А., Бисенбаев А.К., Бельгубаева А.К., Берсимбаев Р.И. Бидай алейрон ұлпаларының инкубациялық ортаны асидификациялау активтілігіне фитогормондардың әсері // Известия НАН РК, серия биол., вып.6, с. 18-23, 2004., №1.
- 7 Bissenbaev A.K., Altybaeva N.A., Kolbaeva G.A. Role of reactive oxygen species and antioxidant enzymes in hormone regulating programmed cell death of wheat aleurone layer // Journal of Cell and Molecular Biology 6(1): 41-48, 2007.
- 8 Chrispeels M.J. Varner J.E. Gibberellic acid –enhanced syntesis and release of alpha-amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers// Plant physiol., 1967. V. 42., N.3. p 398-406.
- 9 Бисенбаев А.К. Роль активных форм кислорода и антиоксидантных ферментов в гормонально регулируемой гибели клеток алейронового слоя зерна пшеницы// «Биотехнология Теория и практика», 2005, N4, с. 142-149.

Тұжырым

Бидай дәнінің алейрон клеткаларының гидролитикалық және антиоксиданты ферменттер белсенділігінің гормонға тәуелді реттелуінде pH мәнінің шешуші рөл атқаратындығы анықталған. Шынында да, алейрон қабатының клеткалары ГК-ның әсерінен клеткадан тыс ортаның асидификация үрдісін жандандыратынын көрсетеді. Альфа-амилазаға, сондай-ақ супероксиддисмутазаға қатысты ГК-ның әсер, инкубациялық орта pH мәні нейтральды болған жағдайда айтарлықтай жоғарлайтындығы анықталған. Бұл нәтижелер, клеткалық жауаптың толық қалыптасуы үшін, ГК гормонының рецептормен өзара әсерлесуі қажет екендігі туралы болжам жасауға мүмкіндік береді.

Summary

The results presented in this report show real effect of the pH of the incubation medium on the activities of alpha -amylase and superoxidedismutase of wheat aleurone layer. It has been shown that aleurone layer cells really enhance the extracellular medium acidification processes under the action of GA. At the same time, the sensitivity of aleurone layer cells towards GA in respect to both amylase and antioxidant enzymes substantially increases when the pH of incubation medium is neutral. . It has been proposed that to form full cell response only the interaction of GA with its receptor is required to initiate subsequent distal stages of hormonal effect realization.

УДК 636.293.1.(574.5)

Есмұханбетов Д. Н., Садықұлов Т.С., Серикбаева А.Д.

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ МАРАЛОВ – РОГАЧЕЙ

Белковые фракций сыворотки крови маралов – рогачей определяли фотометрическим методом. Изменчивость белковых фракций сыворотки крови маралов – рогачей определяли в зависимости от возраста. В период их роста увеличение концентрации глобулинов в крови указывает на интенсивность процесса обмена в тканях и функциональную активность клеток. Увеличения привесов маралов рогачей находится в прямой зависимости от сбалансированного питания и содержания в крови общего белка и глобулинов. Исследования выявили, что увеличения уровня общего белка в крови обусловлено в основном увеличением количества β и γ глобулинов.

Казахстан является крупной аграрно-промышленной республикой, располагает большими площадями естественных кормовых угодий (180 млн.га) и имеет реальные возможности для успешного развития всех отраслей животноводства, в том числе и пантового оленеводства [1].

За последние двадцать лет пантовое мараловодство развивалось и дошло до такого уровня, что преобразовалось в самостоятельную отрасль животноводства. Разведение маралов обусловлено физиологическим приспособлением их к питанию определенными видами ассоциации растительной фауны в разводимых регионах. Использование этих пастбищ сельскохозяйственными животными затруднено некоторыми специфическими и экологическими условиями региона (резкоконтинентальный климат, лесистость и гористость местности и т.д.) [2].

Пантовое мараловодство Восточного Казахстана представлено двумя традиционно разводимыми видами, пантовых оленей обитающих в горных отрогах Южного Алтая - маралы (*Cervus elaphus sibiricus*) и пятнистые олени (*Cervus hippon hortulorum*), которые являются лучшими представителями пантовых оленей мира и имеют значительную ценность для человека [3].

Лекарственные и оздоровительные препараты, получаемые из пантов, а также из крови маралов являются мощным стимулирующим, общетонизирующим и адаптогенным средством, которые благодаря этим свойствам нашли широкое применение не только в тибетской медицине, но и в современной фармакологии. Они нашли применение при лечении большого количества различных заболеваний [4,5].

Все возрастающий спрос на панты, как лекарственный препарат пантокрин, и на побочную продукцию как кровь маралов и пятнистых оленей, обуславливает необходимость интенсивно развивать важную отрасль сельского хозяйства как пантовое оленеводство, которая является рентабельной.

В 2001 году впервые с исконной родины Восточного Казахстана был осуществлен завоз около 90 (девятидесяти) голов маралов в Алматинскую область для разведения этих животных в условиях высокогорья Заилийского Алатау [6].

В связи с этим большой научный и практический интерес представляет исследования направленные по изучению продуктивно - биологических особенностей маралов в новых экологических условиях.

Целью исследования изучение белкового состава сыворотки крови маралов – рогачей

Материалы и методы

Во время срезки пантов маралов было проведено учет маралов-рогачей методом биркования с присвоением индивидуального номера животному. А также взяты промеры тела (высота в холке, обхват груди, косая длина туловища, длина спины, высота в крестце) маралов-рогачей и промеры пантов (длина стволов рогов) и вес срезанных пантов. Было взято сыворотка крови маралов-рогачей методом: отстаивания крови на 4 часов при температуре 38°C, затем отстаивание крови на 12 часов при температуре -12°C с последующим выделением сыворотки обводкой.

Белковые фракции сыворотки крови маралов–рогачей определяли фотометрическим методом [7]. Отдельные фракции белка способны осаждаться фосфатными растворами определенной концентрации.

Результаты и их обсуждение

Изменчивость белковых фракций сыворотки крови маралов – рогачей определяли в зависимости от возраста (таблица 1).

Таблица 1 - Изменчивость белковых фракций сыворотки крови маралов – рогачей

возраст маралов рогачей	содержание белковых фракции, %			
	альбумин	глобулин		
		α	β	γ
2 года	53,89	12,83	7,95	25,7
3 года	57,58	11,28	6,08	25,1
4 года	52,48	13,56	6,83	27,2
5 лет	50,25	13,56	7,61	28,6
6 лет	47,6	14,7	9,4	28,2
7 лет	44,5	14,1	12,1	29,3
8 лет	43,3	15,2	11,1	30,8

По исследованиям сыворотки крови маралов-рогачей содержание белка альбумина повышается в 3 года от 53,89% до 57,58%. С 4 лет концентрация альбумина снижается до 43,3% (8 лет), что

связано с кормлением и природными условиями. Как видно из данной таблицы, концентрация α - и β -глобулинов не одинакова. В сыворотке крови маралов-рогачей α -глобулин изменяется от 13,0% до 15,2%. Концентрация β -глобулинов с возрастом маралов-рогачей изменяется от 10,2% до 12,1%. γ -глобулины показали наилучший результат т.е. изменяется в сторону повышения на 5,1% от 25,7% до 30,8%. С 2 по 8 лет в крови маралов-рогачей концентрация γ -глобулинов повышается на одном уровне и достигает максимума в 8 лет – 30,8%.

Наблюдается высокий уровень γ -глобулинов в сыворотке крови у маралов-рогачей. В период их роста увеличение концентрации глобулинов в крови указывает на интенсивность процесса обмена в тканях и функциональную активность клеток. После первого приема молозива в крови молодняка появляются γ -глобулины. Уровень последних с ростом и развитием молодняка в сыворотке крови увеличивается до 30,8%, а β -глобулин составляет 10,2%. Изменения в содержании белка и его фракций в зависимости от возраста взаимосвязано с обменом веществ у маралов-рогачей. Увеличения привесов маралов-рогачей находится в прямой зависимости от сбалансированного питания и содержания в крови общего белка и глобулинов.

Исследования выявили, что увеличения уровня общего белка в крови обусловлено в основном увеличением количества β - и γ -глобулинов.

Литература

- 1 Федосенко А.К. Марал (экология, поведение, хозяйственное значение).- Алма-Ата.-1980.- 200 с.
- 2 Жексекенев З.Ж. Научные основы технологии мараловодства в Восточном Казахстане. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук, Республика Казахстан.-Усть-Каменогорск. – 2003
- 3 Галкин В.С., Митюшев П.В., Любимов М.П. Практические советы по пантовому оленеводству в Горном Алтае. - Горно-Алтайск.- 1967.-44 с.
- 4 Пятков Л.П., Прядко Э.И. Мараловодство. - Алма-Ата.-1971.-130 с.
- 5 З.Ж. Жексекенев, Е.И. Рогожников Состояние и перспективы развития мараловодства //Материалы международной научно – практической конференций посвященной 10-летию независимости Республики Казахстан: Состояние и перспективы скотоводства, свиноводства в начале XXI века. – Алматы.- 2001
- 6 Жексекенев З.Ж. Современное состояние пантового оленеводства.-Усть-Каменогорск.- 2002.- 263 с.
- 7 Практикум по биохимии сельскохозяйственных животных.- Москва: Высшая школа.- 1980.- 198 с.

Тұжырым

Еркек маралдардың қан сарысуының құрамындағы белоктық фракциялар фотометриялық әдіспен анықталды. Еркек маралдардың жасына байланысты белоктық фракциялардың өзгергіштігі анықталды. Маралдардың өсуі кезінде қан сарысуының құрамындағы глобулин концентрациясының жоғарылауы ағза ұлпаларының зат алмасу процесінің интенсивті жүруін және торша функциясының қарқындылығын білдіреді. Еркек маралдардың салмақ қосуы толық қанды азықтануымен бірге қандағы жалпы белоктың және глобулиннің мөлшеріне байланысты. Қандағы глобулин фракцияларының төмендеуіне қарай тәуліктік салмақ қосуы да төмендейді.

Зерттеулердің нәтижесінде қандағы жалпы белок мөлшерінің ұлғаюы β - және γ -глобулиндерімен олардың липидтік комплекстерінің ұлғаюымен тікелей байланысты.

Summary

Albumen fractions of blood serum of stag marals were determined by photometric method. Changeability of Albumen fractions of blood serum of stag marals was determined based on the age. During their growth increasing of globulin's concentration in the blood indicates intensity of turnover and functional activity of tissues. Increase of additional weight of stag marals directly depends on balanced feeding and content of crude protein and globulin. As globulin fractions in the blood decreases so far daily weight gain decreases.

Researches detected that increase of crude protein in the blood is caused by increase of β 's and γ -globulin's amounts, and their complex with lipids.

**СЕПАРАЦИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ**

(Научно-производственное предприятие «Антиген»)

В статье приводятся данные по определению оптимальных условий сепарации и культивированию стволовых клеток пуповинной крови. Приведены данные по экспансии гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови при культивировании in vitro.

Пуповинная кровь (ПК) - ценный источник стволовых клеток. Кровь эта содержит немало стволовых клеток, в основном кроветворных "предшественников". Областью применения стволовых клеток ПК в медицине является в основном гематология (лечение разных форм лейкозов), наиболее широкая, по сравнению с другими областями медицины. Лидерами по количеству ежегодных трансплантаций ПК являются Япония, и США, где половина трансплантаций у детей приходится на ПК, а у взрослых пациентов этот показатель достигает 20% [1].

По данным ряда авторов, в период с 1993 по 2007 год было выполнено 8000-9000 трансплантаций ПК [2]. Общее количество замороженных образцов составляет 350-400 тысяч в 35 банках 21 страны [3]. Их количество с каждым годом растет, это связано со следующими факторами:

- отсутствие этических проблем применения ПК в клинической практике;
- простая процедура забора ПК, не наносящая вред новорожденному;
- преимущества неродственной трансплантации клеток ПК по сравнению с клетками костного мозга;
- доступность образцов ПК.

Вместе с тем, принципиальным недостатком пуповинной крови можно считать, прежде всего, малое количество стволовых клеток, получаемых при единичной заготовке [4]. Потери клеточной массы в процессе сепарации, криоконсервирования, размораживания и тестирования для пуповинной крови такие потери клеток могут приводить к возникновению несостоятельности трансплантата и рецидива основного заболевания при пересадках. Решением данной проблемы может быть оптимизация методов сепарации и культивирование стволовых клеток пуповинной крови in vitro.

Целью данной работы является определение оптимальных условий сепарации и увеличение содержания стволовых клеток посредством предварительного культивирования in vitro.

Материалы и методы

Образцы пуповинной крови были получены от пациенток Научного центра гинекологии, акушерства и перинатологии после срочных родов. Объем полученной пуповинной крови в среднем варьировал от 20 до 110 см³. Срок от момента забора ПК до ее обработки составил 5-8 часов.

Сепарацию ПК проводили четырьмя методами:

1. сепарация ПК с раствором полиглюкина в разведении 1:1;
2. разделение клеток ПК в градиенте фикола ($\rho = 1,077$);
3. сепарация ПК с 3% раствором желатина;
4. обработка ПК лизирующим раствором хлористого аммония в течение 10-15 мин.

Количественный учет ядродержащих (ЯСК) и мононуклеарных клеток (МНК) в пуповинной крови до и после обработки проводили на автоматическом гематометре. Определение процентного содержания гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), меченных по CD 34, CD 38+ и CD 45+ проводили на проточном цитофлуометре BD. Количественный учет и фенотипирование стволовых клеток ПК проводили совместно с сотрудниками лаборатории «Цитологии» Научного центра гинекологии, акушерства и перинатологии РК (зав. лаб. д.б.н. профессор В.С. Толмачев, СИС, к.б.н. Кудрина Н.О.): Всем им выражаю свою сердечную благодарность за помощь в работе.

Культивирование стволовых клеток ПК проводили в культуральных флаконах T-25 Canted Neck, IWAKI. Для культивирования клеток ПК использовали среды Игла MEM альфа с 20% плазмы ПК (ППК) или среды mesencult (StemCell Technologies Inc). Клетки инкубировали при температуре 37⁰С в СО₂-инкубаторе. В качестве ингибитора дифференцировки стволовых клеток ПК использовали лейкемию ингибирующий фактор (Ли-фактор) в концентрации 500 ед/см³. Для культивирования клеток ПК использовали основную аутологичную плазму за исключением тех случаев, когда заготавливали малый объем ПК. В этих случаях использовали аллогенную плазму ПК. Для получения цитологических препаратов монослой клеток фиксировали метанолом и окрашивали по Гимза.

Результаты и их обсуждение

Количественный учет ЯСК и МНК пуповинной крови проводили до и после сепарации. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1 наиболее оптимальным методом сепарации пуповинной крови является разделение в градиенте фикола. В этом случае наблюдается наибольший процент выхода ядросодержащих и моноклеарных клеток. Сепарация ПК с полиглюкином приводит к значительной потере клеток. Сепарация с 3% раствором желатина дает сходный результат с градиентом фикола, но в этом случае не происходит полной очистки суспензии от эритроцитов, которые препятствуют культивированию клеток ПК. Обработка лизирующим раствором приводит к полной очистке суспензии от эритроцитов, но повреждает мембраны клеток, что уменьшает адгезию клеток на подложку.

Таблица 1 - Определение количества ЯСК и МНК в суспензии клеток пуповинной крови до и после сепарации

Основные параметры	ЯСК в образце $\times 10^6/\text{см}^3$	Общий выход ЯСК $\times 10^8$ клеток	Процент выхода %	МНК в образце $\times 10^6/\text{см}^3$	Общий выход МНК $\times 10^8$ клеток	Процент выхода %
До сепарации	16,5 $\pm$ 0,2	11,55 $\pm$ 0,2	100	7,4 $\pm$ 0,1	5,18 $\pm$ 0,1	100
Сепарация с 3% раствором желатина	7,8 $\pm$ 0,1	5,4 $\pm$ 0,1	46,75	4,6 $\pm$ 0,1	3,2 $\pm$ 0,1	61,77
Сепарация с раствором полиглюкина	3,4 $\pm$ 0,2	2,38 $\pm$ 0,2	20,6	1,8 $\pm$ 0,2	1,26 $\pm$ 0,2	24,32
Разделение в градиенте фикола	12,43 $\pm$ 0,3	8,7 $\pm$ 0,3	75,35	4,9 $\pm$ 0,2	3,43 $\pm$ 0,2	66,21
Обработка ПК лизирующим раствором	12,75 $\pm$ 1,5	9,5 $\pm$ 0,8	82,25	4,6 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,7	57,91

Следующим этапом нашей работы было определение наиболее оптимальных условий культивирования клеток пуповинной крови *in vitro*. Клетки ПК после сепарации в градиенте фикола культивировали на среде Игла MEM альфа модификация с 20% ППК и 500 ед/см³ ЛИ-фактора. В качестве сравнительной среды использовали среду mesencult (StemCell Technologies Inc). Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Культивирования стволовых клеток пуповинной крови *in vitro*

Основные показатели	Условия культивирования клеток пуповинной крови	
	MEM (α) + 20% ППК + 500 ед/см ЛИ-фактора	Среда mesencult
Прикрепление клеток (часы)	24-48	24-48
Образование колоний (сутки)	5-6	3-4
Образование монослоя (сутки)	10-12	8-10

Как видно из таблицы 2 культивирование стволовых клеток ПК на среде Игла MEM (α) с 20% ППК и 500 ед/см³ ЛИ-фактора имеет сходную картину с культивированием на среде mesencult. Наблюдается лишь небольшое отставание в сроках образования колоний и монослоя.

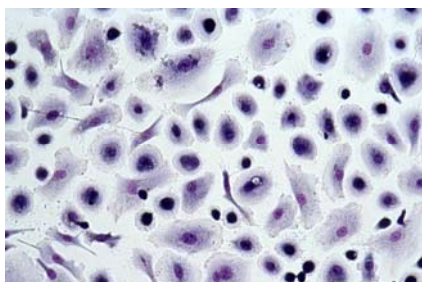
Для определения процента гемопоэтических стволовых клеток в культуре пуповинной крови, выращенной на среде Игла MEM (α) + 20% ППК и ЛИ-фактора (500 ед/см³), нами была проведена проточная цитометрия клеток на маркеры CD 34+, CD 38+ и CD 45+. Результаты представлены в таблице 3.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что культивирование клеток пуповинной крови на среде Игла МЕМ (α)+ 20% СПК и Ли-фактора (500 ед/см³), приводит к значительному увеличению процента гемопоэтических клеток. Кратность экспансии CD 34+клеток достигает 4,4 раза, CD 38+ в 4,38 раза, наибольшую кратность экспансии достигают CD 45+ клетки в 11,4 раза.

Таблица 3 - Результаты количественного учета гематопоэтических стволовых клеток пуповинной крови до и после культивирования in vitro

Основные параметры	Общее количество клеток X10 ⁸	Количество CD34+ клеток X10 ⁶	Количество CD38+ клеток X10 ⁷	Количество CD45+ клеток X10 ⁸
После сепарации	5,6±0,5	15,8±0,2	9,5±0,5	3,2±0,4
После культивирования	45,8±2,9	69,7±2,3	41,5±2,5	36,5±2,7
Кратность экспансии	8,3±1,2	4,40±0,5	4,38±0,6	11,40 ±0,4

Основная масса клеток в культуре представлена гемопоэтическими стволовыми клетками. Преимуществом данного метода является то, что при культивировании используется в основном аутологичная плазма, что полностью исключает возможность контаминации образца ПК возбудителями различных заболеваний.



увеличение 40X10, окраска по Гимза

Рисунок 1 - 10 суточная культура клеток ПК

Таким образом, оптимальным условием культивирования клеток пуповинной крови человека является культивирование в CO₂-инкубаторе, используя в качестве среды Игла МЕМ (α)+ 20% СПК и 500 ед/см³ ЛИ-фактора, что позволило получить монослой на 10-12 сутки культивирования. Культивирование приводило к получению культур, состоящих из удлинённых дендритных клеток и эпителиоподобных клеток в соответствии с рисунком 1. Культуры клеток ПК в основном были представлены клетками лимфоцитарного ряда. Таким образом, при культивировании клеток ПК можно использовать менее дорогую среду Игла МЕМ (α)+ 20% СПК и Ли-фактора (500 ед/ см³) и получить культуру стволовых клеток пуповинной крови.

Литература

- 1 Исаев А.Л., Мелихова В.С. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике //Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.- Том III №1 2008 с.34-42
- 2 Rubinstein P. Why Cord Blood? // Human Immunology.- 2006.- 67.-P. 398-404
- 3 Rocha V., Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells // Biol Blood Marrow Transplant.- 2006.- 12.-P. 34-41
- 4 Wagner J.E., Barker J.N., DeFor T.E. et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival // Blood.- 2002.- 100.-P.-1611-18

Тұжырым

Кіндік қаны жасушаларын фико́л градиентінде бөліп алу оларды ары қарай in vitro жағдайында өсіруге тиімді әдіс болып табылады. Кіндік қаны жасушаларының өсіндерін фенотиптендіру гемопоэтикалық діндік жасушалардың экспансиясына әкеліп соқтырады.

Summary

Division the cells of blood cords in gradient ficolls is an most optimum method for the further cultivation in vitro. Phenotyping cultures of the cells of blood cords shows the expansion a hemopoietic stem cells.

УДК. 581.163

Mukhambetzhano S.K.

THE PHENOMENON OF APOMIXIS IN SOME MONOCOTYLEDONES

(Institute of Plant Biology and Biotechnology)

In present article a short review of apomixis in Poaceae family and the description of the recent advances in the molecular and genetic characterization of apomicts has been done and apomixis using for breeding, biotechnology and gene engineering purposes.

Apomixis is an asexual mode of reproduction in which an ovule develops into a seed without involving meiosis and fertilization. It is now used synonymously with 'agamospermy' meaning asexual reproduction by seeds or seed apomixes. This mode of reproduction is reported in more than 400 species belonging to 40 families [1].

For many years, apomixis was studied only by a small group of interested botanists and plant breeders. However, because of its tremendous potential for agriculture: rapid development of new hybrid varieties, economic hybrid seed production, propagation of hybrid seed, resistance against pathogens, handling propagation material.

In this case apomixis research has attracted much more attention during the last few years. If apomixis could be introduced into sexual crops, it would greatly simplify breeding schemes and allow the fixation of any genotype, including that of F1 hybrids. Apomixis technology could play a major role in feeding the growing population of our planet provided that it will be freely accessible to all users, especially resource-poor farmers in developing countries, requiring innovative approaches for technology generation, patenting, and licensing.

Current apomixis research focuses on elucidating the genetic basis and molecular mechanisms that control apomictic reproduction. Two major complementary approaches are being pursued: first, to identify genes controlling individual elements of apomixis in well-defined sexual model species and second, to unravel the genetic control of apomixis in natural apomicts. For nearly two decades, the genetic control of apomixis had been elucidated in very few species. Recently, however, inheritance studies for several natural apomicts have been published that shed new light on the genetic control of this important developmental process [2].

Phenomenon of apomixis

In sexual reproduction meiosis reduces the chromosome number of the megaspore mother cell to form reduced megaspores, one of which develops into an embryo sac containing the female gamete (the egg cell). In most plants these embryo sacs have eight nuclei and are described as *Polygonum* type. The fusion of two unique haploid gametes, derived from the random assortment of the genetic material occurring during meiosis, results in the generation of diploid and genetically diverse progenies. In contrast, in apomictic reproduction, the embryo develops autonomously an unreduced cell having the same set of maternal chromosomes and giving rise to plants that are clones of the mother plant [2].

Apomictic plants are the result of either one of two types of development, sporophytic or gametophytic. In sporophytic apomixis or adventitious embryony, embryos are formed directly from unreduced cells of the nucellus, or inner integument, while the developmental pathway of meiotic embryo sac is maintained. Gametophytic apomixis is characterized by apomeiosis. Meiosis is either altered or totally bypassed, and as a consequence, an unreduced female gametophyte, or embryo sac, is formed. There is no fusion of male and female gametes and the egg cell develops autonomously, by parthenogenesis, generating an embryo that keeps the same set of maternal chromosomes. Apospory and diplospory are different types of gametophytic apomixes. In diplospory, the megaspore mother cell bypasses or fails to achieve meiosis, but through mitoses forms an embryo sac with all unreduced cells distributed as in the meiotic embryo sac of the *Polygonum* type. In this case, the sexual process is completely compromised. In apospory some nucellar cells, called aposporous initials enter in mitosis directly and unreduced embryo sacs are formed. Sexuality and apospory can occur simultaneously in the same ovule. If fertilization of the central cell is necessary to form the endosperm, the system is regarded as pseudogamous, if not, it is autonomous [3].

Association between apomixis, polyploidy and polyembryony is recorded for many species. Apomicts are generally polyploids, tetraploidy being the commonest level and very few diploid apomicts existing in nature. The reason for this association is still not understood [4]. Besides apomixis, anomalies involving ovule development can result in polyspory (bispority and tetraspority) and polyembryony. In polyspory ovule development is disrupted, but reduced egg cells are formed and require fertilisation. Polyembryony refers to the formation of multiple embryos in one ovule and some authors consider adventitious embryony as a form of polyembryony. In polyembryony embryos may result from - the presence of multiple embryo sacs in an ovule, - synergids or - the cleavage of the cells produced by the zygote and not from unreduced cells of the nucellus as defined for adventitious embryony. In contrast, in some reviews on polyembryony and apomixis, the term apomixis was restricted to gametophytic apomixis and adventitious embryony was regarded as polyembryony [5]. Based on cytological, phylogenetic and genomic data, he suggested that apomixis; polyspory and polyembryony have a common origin that is the asynchronous expression of duplicate genes in polyploids. Until now, induction of polyploidy in sexual plants by application of suppressors of cell division could not elucidate the association between apomixis and polyploidy.

In *Paspalum*, facultative apomicts were generated by duplicating the chromosome number of previously sexual diploids after colchicine treatment [6], while in *Brachiaria brizantha* tetraploids derived from duplicating sexual diploids maintained their sexuality [7].

In apomicts, pollen formation often occurs normally in anthers generating viable reduced pollen. Apomicts able to generate at least part of its progeny by sexuality are regarded as facultative. Progenies from facultative apomicts segregate into maternal (apomictic) and non-maternal or aberrant (derived from sexuality) classes. Apomictic plants bearing fertile pollen can be used to pollinate sexual or facultative apomictic plants to transfer genetic characters to their offspring. Even so, a frequent limitation of crosses between sexuals and apomicts is ploidy number. Apomictic species are organized in agamic complexes, where individuals of different ploidy levels exhibit characteristic reproductive modes. While diploids are sexual, polyploids express apomixis. Considering that new apomictic polyploids can eventually be originated from diploids by sequential steps of $2n + n$ hybridization, it is clear that this peculiar strategy allows the maintenance of a certain degree of variability among polyploids, even when they are apomictic [8].

Identification of apomixis

Czapik discussed the parameters on how to detect apomixis in angiosperms. From geographic distribution and morphological features in the field to cytological and embryological observation, there are many ways to identify and to confirm the occurrence of apomixes [2].

Plants that reproduce strictly by apomixis do not segregate; the progeny is identical to the mother plant. Therefore, in the field, the observation of non-segregation of maternal phenotypic characteristics is an indication of apomixis. In the case of autonomous apomixis, one can observe the occurrence of seed set in plants that had their female flowers isolated or, that had their stigmas and anthers excised from the flowers. This is not possible for pseudogamous apomicts because, although there is no need for fertilization to trigger embryo development, it is still necessary to form the endosperm and a viable seed. Apomixis can be evidenced more accurately by analysis of the segregation of biochemical and molecular markers.

Isozymes and RAPD (Random amplified polymorphic DNA) markers are useful for detecting precociously the mode of reproduction in hybrids, as shown in *Poa pratensis* [9]. In cereals, polyploidy and unbalanced meiosis are present in mainly members of the section of grass, corroborating the hypothesis of apomixis previously built by the observation of a pronounced morphological influence of the maternal parent. Indeed, analysis of RAPD markers showed no inheritance from the male parent [6]. To our knowledge a definitive study of the embryology of this plant has not yet been performed. RAPDs were also successfully applied to the analysis of apomixis in different segregant population of *Paspalum notatum*, an important grass for turf and forage. In tetraploid populations of *Aronia* [10], the mother parent and the offspring showed identical RAPD profiles. In the savanna grass, *Hyparrhenia diplandra*, highly variable micro satellites were used to show the occurrence of facultative apomixis with rare events of sexual reproduction [11]. In *Brachiaria*, GISH (genome *in situ* hybridization) and FISH (fluorescent *in situ* hybridization) probes were used to distinguish maternal and paternal chromosomes for hybrid verification and a suspicion of apomixis was discarded [12].

Many cytoembryological characteristics of apomictic plants can be used as circumstantial indicatives of apomixis. Gametophytic apomicts are generally polyploids, while related sexuals are diploids. Chromosomes counting in root tips and estimation of DNA content by flow cytometry are largely employed to determine ploidy [13]. Though a direct correlation of apomixes and polyploidy is not established, polyploidy can indicate a possible presence of apomixis.

Apomixis occurs in the female part of the flower, the ovary and more specifically in the ovule. The morphological characterization of ovule development is a traditional way to predict apomixis by detecting meiosis failures, abnormal pattern of callose deposition, presence of aposporous initials, presence of more than one embryo sac in an ovule, formation of typical or irregular embryo sacs, polyembryony, presence of embryos in ovules before fertilization, etc. These characteristics can be observed by light microscopy using microtome sections or clearing methods. Both procedures can be used to establish the development of ovules, embryo sacs and embryos and to detect signs of apomixis. The nucellar or integumentary origin of the adventitious embryos can only be claimed after embryological studies [14].

Clearing methods, such as described by Herr (1971) or Young *et al.* (1979) are very useful for rapid screening of numerous samples [15]. They are faster and easier than sectioning and staining because nuclei and walls of reproductive cells can be observed in intact pistils and ovules, previously incubated in methylsalicylate, with interference contrast microscopy. For example, they have been employed to analyze natural apomicts and their hybrids with sexuals in diplosporous autonomous apomictic in large segregant F₁ populations of *Paspalum* sp. [16, 17]. Clearing methods can also be used in combination with aniline blue to detect callose deposition during megasporogenesis, which can to some extent be related to apomixis or sexuality. Abnormal callose deposition was found during apomictic megasporocyte development in *Poa pratensis*, in aposporous *Panicum maximum*, *Pennisetum squamulatum* and *Brachiaria brizantha* [18, 19]. The cell wall morphology during megasporogenesis showed deficiency in callose deposition in facultative diplosporous apomictic *Elymus rectisetus* and it was used to classify the hybrids between *Elymus rectisetus* and *Triticum aestivum* L. [20].

Occurrence of polyembryony can be an indicative of apospory or adventitious embryony and has to be determined by embryological methods or during seed germination. But, polyembryony does not necessarily imply apomixis. Alternatively, diploid plants can result from zygote cleavage or haploid plants can result from development of one or more synergids or antipodals and from more than one embryo sac in the ovule. Isozymes or molecular analysis of seedlings can determine their zygotic or adventitious origin.

Genetic of apomixis

In this chapter, we will concentrate on the genetic bases of gametophytic apomixis, in which the embryo originates from an unreduced gamete, because it is the type of apomixis better studied so far.

Nogler considered that probably the basic determinants of apomixis could have been originated by mutation and most of the other genes involved in the process would probably be similar to those implicated in sexuality. More recently, apomixis has been accepted as a result of a rearrangement of the developmental programs that constitute the normal sexual pathway. It is a heritable trait whose genetic control in many species still remains unclear [21].

Despite its broad distribution within the angiosperms, apomixis is not very common in the major crops. This condition forced studies in the field to be performed in wild species that are polyploids, highly heterozygous and genetically poorly characterised. In grasses, inheritance analyses are carried out normally on segregating F₁ progenies originated from crosses between sexual and apomictic progenitors. Families of this type are generated using natural sexual diploids or, if available, sexual polyploids (natural or artificially generated) as mother plants and apomicts as pollen donors. Backcrosses (F₁ sexual x sexual progenitor or F₁ apomictic x sexual progenitor) and F₂ (F₁ sexual x F₁ sexual or F₁ sexual x F₁ apomictic) are also recommended to confirm the results [22]. Progenies are then classified as apomictic or sexual by cytoembryological methods or progeny tests.

Detailed descriptions about the genetic control of apomixis in several species can be found in previous works [23]. Genetic analysis in *Panicum maximum* indicated the trait was under the control of a simple dominant factor. In these works, apomeiosis and parthenogenesis were shown to co-segregate strictly, suggesting that these two components rely on the same genetic control, or that parthenogenesis is a pleiotropic consequence of apomeiosis. However, the complexity of the apomictic process has led to often conflicting interpretation of results in different species. In a way to simplify the analysis, most studies concentrated in the inheritance of apomeiosis (apospory or diplospory). In the grasses, after the pioneer work in *Panicum* studies in *Pennisetum*, *Brachiaria*, *Maize-Tripsacum* hybrids and *Paspalum* agreed in indicate that both apospory and diplospory were controlled by one dominant locus [3, 23-27]. Although in *Paspalum* and *Pennisetum* a strong distortion in the transmission of apospory was observed [3, 24].

A fine characterisation of the inheritance of apomixis in tetraploid *Tripsacum dactyloides*, a wild relative of maize, showed that diplospory segregated in a non-mendelian fashion [26]. Linkage maps for the segment controlling diplospory in tetraploid apomicts were used to compare the same linkage group in diploid sexual plants. The data show that recombination is strongly suppressed in the segment that controls apomeiosis, which therefore behaves as a single genetic unit. This unit represents 40 cM on the map developed for sexual

Tripsacum; this block probably contains several hundred genes, of which an unknown number would participate in apomixis [27]. A similar structure was found in *Pennisetum* where several markers belonging to an apospory specific genomic region (ASGR) co segregate strictly linked to apospory. This ASGR resulted partially hemizygous and showed a strong restriction in recombination [28]. Experiments using *in situ* hybridisation with markers completely linked to apospory in the species confirmed that a single chromosome is sufficient for the transmission of apomixis (and molecular markers linked to it) and showed that ASGR is located at the end of a single metacentric *P. squamulatum* chromosome [29].

In *Paspalum notatum* and *Panicum maximum* numerous molecular markers segregating completely linked to apospory were also detected [17, 30]. These particular distribution of markers in both species suggested a strong restriction in recombination around the apospory locus because it is unlikely that a small genomic region became saturated with markers while the rest of the genome do not. In *P. notatum* the chromosome block carrying the locus for apospory (in which numerous markers are completely linked) contains repetitive elements and could actually span for a segment of 25-30 cM (about 40 Mpb for the species). This particular chromosome segment showed also preferential chromosome pairing (disomic inheritance), while the rests of the genomic complement have a polisomic behaviour [30].

The lack of recombination associated with the control of apomeiosis can be associated with a strategy for avoiding dispersion of factors that need to co-segregate strictly if apomixis is to be determined [26].

Attempts to map apomeiosis with common molecular probes in several species, including *Tripsacum*, *Brachiaria* and *Paspalum*, all forage grasses, have shown the genomic regions that controls the trait are distinct (i.e. non-homologous) among those species [16, 31, 32]. However, the region is conserved within the three species of the genus *Paspalum* [33]. This means that apomixis, in its various forms, probably arose in different grass species through the action of different genetic loci [34]. Moreover, in particular cases, this gene(s) appeared to be associated with some lethal factor affecting part of the female or male gametes [16].

Although it is the case for most apomicts studied, there are some exceptions. In the triploid *Erigeron annuus*, diplospory and parthenogenesis are controlled by independent loci [34]. In *Poa pratensis* a recent analysis involving several segregating populations from inter-crossing and selfing of obligated and sexual and facultative apomictic plants proposed that five major genes control apomixis in the species. Differences in expressivities and interactions among them would be responsible for the inheritance and the wide variation of the mode of reproduction. In this system also apomeiosis and parthenogenesis segregated independently [35].

Apomixis and applied approaches

With the advances of biotechnology an interest in apomixis increased. Gene transfer between plants, independently from sexual compatibility, is already a reality and the control of apomixis by genetic engineering is a challenge to different research groups around the world [36].

In floriculture, vegetative propagation of individuals is desirable as it is a way to keep low genetic variability in the propagated culture. There are several methods *in vitro* techniques as: vegetative propagation such induction of adventitious buds, grafting, and female gametophyte culture [37, 38]. Micropropagation brings great commercial advantages and success stories about the utilization of tissue culture technology are numerous. In fact, micropropagation and the production of clonally uniform plants has become an industry all over the world involving axillary branching and somatic embryogenesis. There are still some ornamental plants in which a vegetative propagation method is not fully established, and with a limited multiplication rate. One can imagine the impact of transferring apomixis to commercial plants [39]. Its controlled use can bring a direct advantage, such as fixing and cloning through seeds elite genotypes and hybrids. Cloning by seed cultures that are actually vegetatively propagated is of floricultural interest since it can be used to restrain viral diseases, once viruses can accumulate in the plants diminishing yield and quality. Another advantage of bringing apomixis to elite genotypes and hybrids is to allow small farmers to propagate their own seeds. As a result, commercial production will be simplified, with a subsequent decrease in cost. Another expected benefit of apomixes is the possibility of fixing locally adapted varieties. Their ability to survive under local stresses like extreme climate conditions or under pathogen pressure would be fixed and used in propagation. In addition, breeding of natural apomicts is very difficult because of the impossibility of making crosses and incorporating a new trait as a consequence of this mode of reproduction. Study of apomixis can be envisaged to find a way to control the expression of genes responsible for apomixis. This would allow the transmission of the male progenitor characteristics to the progeny. In this way, at least in theory, interfering in the expression of one or a few genes, apomixis could be silenced, allowing recombination, and re-expressed in improved hybrids.

Grasses from the Poaceae family are largely used as ornamental plants in parks and gardens. They maintain soil fertility, create a habitat for wildlife and provide recreational space for sport and leisure while

contributing to the general landscape. Grasses cover 26% of the world's total land area and because of their economical importance, apomixis in grasses has been far more studied than in any other group of species [40]. Several grass genera of ornamental importance contain apomictic species such as: *Calamagrostis*, *Eragrostis*, *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum* and *Poa*. Breeding such species is restricted in many cases to the selection of superior genotypes from the natural populations. Because of this, collection of germplasm is one of the most important points to take in account. After that, determination of the reproductive mode of each accession as well as the chromosome number is needed. After field evaluation, cultivars are obtained directly by multiplying the desired genotypes by seed. For instance, in *Poa pratensis* (Kentucky bluegrass), a pseudogamous facultative aposporous apomictic is used as a turf grass; cultivars can be originated by a single plant selection and multiplication or selection in F1 progeny [41].

Basically, two groups of procedures have been considered for transferring gametophytic apomixis into sexual species: 1) wide hybridization between a sexual plant and a wild apomictic relative; 2) genetic transformation of sexual cultivars with genes considered to control the onset of the character. The first approach has already been attempted in several species, generating apomictic backcross plants with additional chromosomes and a high degree of seed abortion [39]. The second one still remains hypothetical.

The first proposal aiming to introduce apomixis from wide crosses was applied nearly 40 years ago, by hybridisation of tetraploid maize with tetraploid *Tripsacum dactyloides* [42]. Similar attempts produced intra-specific hybrids of maize-*Tripsacum* that reproduce by apomixis. However, as hybrids obtained after a series of backcrosses are completely male sterile, progress in recovering the maize genome is strongly associated with the degree of facultativeness and hence to some expression of sexuality.

The lack of such plants is at present challenging this strategy. An additional difficulty observed is the strict requirement of a 2 maternal:1 paternal genome ratio necessary to develop the endosperm and set viable seeds in maize. In spite of these problems, significant advances have been achieved as a result of these works. The *Tripsacum* chromosome carrying the genes for apomixis was identified and compared with its syntenic region in maize [42]. Moreover, a segregation-distorter factor promoting the elimination of the apomictic alleles when transmitted by haploid gametes was proposed to explain the relationship between apomixis and polyploidy. Likewise, a program initiated at the end of the seventies attempting the introgression of apomixis into pearl millet (*Pennisetum glaucum*) from *P. squamulatum* is still being carried out [43]. The transference of apomixis gene(s) in a breeding program was successfully performed in guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.). "Natsukaze" was the first apomictic hybrid cultivar generated from crosses between a sexual plant and an unidentified tetraploid apomictic line through open pollination [44].

Genetic transformation of sexual cultivars with genes controlling the expression of the apomictic character is considered as a technical alternative. It opens future perspectives dependent on the identification of this kind of genes. In the last few years molecular marker technologies and molecular biology approaches have produced a considerable amount of new knowledge that could be useful for the future isolation of genes related to the trait [45]. Several markers co-segregating with apomixis in grasses such as hybrids maize-*Tripsacum*, *Pennisetum*, *Brachiaria*, *Paspalum* and *Panicum* have been reported [26, 31, 46, 47]. Markers linked to the trait are useful for studying the transmission of apomixis and for attempting any of the map-based cloning strategies. Efforts to disclose the component of the genomic region associated with apomixis using this approach have revealed its complex nature. In *Pennisetum squamulatum*, SCAR markers tightly linked to apospory were used for isolating the corresponding BACs clones [24]. Classes of BAC clones grouped by apomixes linked

SCAR markers did not overlap, indicating that building a contig spanning the apomixis locus likely will require multiple walking steps [24]. Thus, because the characteristic of the region involved (long chromosome segment with restriction in recombination and the presence of repetitive elements) cloning the critical genes involved in apomixis could represent an enormous effort.

The complexity of the genetic control of the trait is challenging the strategies for transferring apomixis to sexual crops by genetic engineering methodologies, since the gene responsible still has to be cloned and validated and probably it would be necessary to manipulate several factors that segregate independently.

Recent works focused on gene expression studies have reported the isolation of mRNA transcripts specific to flowers or ovaries at different developmental stages in several apomictic grasses such as *Pennisetum ciliare*, *Brachiaria*, *Paspalum notatum*, *Panicum maximum* and *Poa pratensis* [26, 31, 46, 47]. Several cDNA sequences showed homologies with genes of known functions as *asg-1*: a gene similar to *rd22* of *Arabidopsis thaliana* which is induced in seed by drought; *arp1*: from *Poa notatum* similar to kinesin KatD of *Arabidopsis thaliana*; *arp2* y *arp3* homologous to a SGT protein and an aldehyde dehydrogenase, respectively; *PpSERK*: from *Poa pratensis* similar to SERK [48]. *ASG-1* expression in *Panicum maximum* and *Paspalum notatum* seems to be restricted to immature pollen grains and embryos of sexual and apomicts

but specific to aposporous initial cells in ovules [49]. In *Brachiaria brizantha*, a pseudogamous apomictic, cDNA specific from the developmental steps of aposporous and sexual ovaries showed homologies with myosin, exonucleases, a super-family of RecB, kinase MAP, aquaporin, a protein translocator factor and the ribosomal protein 60S [35, 50]. *In situ* localization of the differential cDNA points to specific moments of the apomictic ovary development (unpublished results). Expression analysis of this type followed by characterisation of the possible biological role of the detected RNA transcripts can lead to the identification and cloning of genes involved in the early steps of apomictic development and may also contribute to isolate the trigger of apomixis itself.

Other procedures such as fine mapping around the apo-locus, transposon tagging and mutagenesis are currently being developed and can have an important role in detecting apomixis-related genes. For instance, approaches to generate apomictic mutants from sexual plants have not succeeded in recreating the character but allowed the identification of genes involved in the control of particular developmental steps that are characteristic of apomixis, such as the proliferation of endosperm in the absence of fertilization.

Conclusion

Much work is being done in the world towards developing new improved ornamental plants from seeds. Many of the new varieties are hybrids.

Cloning by seeds can be a tool for their breeding, eliminating segregation in the progeny. This practice can become available as a result of advances in apomixis research. Incorporating genes for apomixis can also contribute to developing new cultivars from varieties that are locally adapted, increasing the diversity of ornamental plants. This chapter aimed to introduce the many ways to identify apomixis, its incidence in Poaceae family plants and the present state of knowledge in the field. The characterisation of the phenomenon will be improved with the advent of large-scale genomic analysis and high throughput gene discovery. Though numerous questions about gene action, function and regulation of apomixis still remain to be answered, a promising scenario is open for the near future. Our understanding of the molecular bases of apomixis has greatly increased in recent years, supported by the development of powerful molecular biology technologies and the interest in apomixis showed by research institutions and scientists. Many of the results obtained so far have already contributed to the breeding of apomictic species, many of which are important natural resources, and will contribute to programs aiming at the generation of improved and asexually seed-propagating crops.

References

- 1 Bhat V., Dwivedi K.K., Khurana J.P., Sopory S.R. *Apomixis: An enigma with potential applications* // *Current science*, 2005, V.89. – P.1879-1893.
- 2 Carneiro V.T., Dusi D.M., Ortiz J.P. *Apomixis: occurrence, applications and improvement* // *Floricultura, Ornamental and Plant Biotechnology*, 2006, V.1. – P.564-571.
- 3 Ozias-Akins P. *Apomixis: Developmental characteristics and genetics* // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2006, V.25. – P.199-216.
- 4 Bakos F., Szabo L., Olmedilla A., Barnabas B. *Histological comparison between wheat embryos developing in vitro from isolated zygotes and those developing in vivo* // *Sex. Plant Reprod.*, 2009, V. 22. – P.15-25.
- 5 Acuna C.A., Martinez E.J., Quarin C.L. *Sexual diploid and apomictic tetraploid races in *Thrasya petrosa* (Gramineae)* // *Australian Journal of Botany*, 2005, V. 53. – P. 479-484.
- 6 Daurelio D.L., Espinoza F., Quarin C.L., Pessino S.C. *Genetic diversity in sexual diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry* // *Plant Systematics and Evolution*, 2004, V.244. – P.189-199.
- 7 Araujo A.C., Falcão R., Carneiro V.T. *Seed abortion in the sexual counterpart of *Brachiaria brizantha* apomicts (Poaceae)* // *Sexual Plant Reprod.*, 2007, V. 20. – P.109 – 121.
- 8 Мухамбетжанов С.К., Тюпина Л.Н., Седловский А.Т. *Фертильность и стерильность микроспор пшеницы и ее гибридов с дикими злаками склонных к апомиксису* // *Вестник КазНУ (сер. Биол.)*, 2006, №1. – с.77-79.
- 9 Ebina M., Nakagawa H., Yamamoto T., Araya H., Tsuruta S., Takahara M., Nakajima K. *Co-segregation of AFLP and RAPD markers to apospory in guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.)* // *Grassland-Science*, 2005, V.51. – P. 71-78.
- 10 Persson Hovmalm H.A., Jeppsson N., Bartish I.V. *RAPD analysis of diploid and tetraploid populations of *Aronia* points to different reproductive strategies within the genus* // *Hereditas*, 2004, V.141. – P.301-312.
- 11 Durand J., Garnier L., Dajoz I., Mousset S., Veuille M. *Gene flow in a facultative apomictic Poacea, the savana grass *Hyparrhenia diplandra** // *Genetics*, 2000, V.156. – P.823-831.

- 12 Araujo A.C.G., Nobrega J.M., Pozzobon M.T., Carneiro V.T.C. Evidence of sexuality in *Brachiaria brizantha* (Poaceae) artificial tetraploid plants and progeny // *Euphytica*, 2005, V.144. – P.39-50.
- 13 Acuña C.A., Martínez E.J., Quarín C.L. Sexual diploid and apomictic tetraploid races in *Thrasya petrosa* (Gramineae) // *Australian Journal of Botany*, 2005, V.53. – P.479-484.
- 14 Мұхамбетжанов С., Ереженев А.Е., Рахымбаев І.Р. Аналық гаметофитті өсірудегі тәжірибелік гаплоидияның мәселелері // *Биотехнология: теория и практика*, 2006, №4. – с.11-16.
- 15 Mukhambetzhonov S. Analysis of *Brachiaria* female gametophyte development using cleared ovules techniques // *Известия НАН РК. (сер.биол.)*, 2006, №4. – с.47-53.
- 16 Martínez E.J., Urbani M.H., Quarín C.L., Ortiz J.P.A. Inheritance of apomixis in bahiagrass, *Paspalum notatum* // *Hereditas*, 2001, V.135. – P.19-25.
- 17 Martínez E.J., Hopp H.E., Stein J., Ortiz J.P.A., Quarín C.L. Genetic characterization of apospory in tetraploid *Paspalum notatum* based on the identification of linked molecular markers // *Molecular Breeding* 2003, V.12. – P.319-327.
- 18 Naumova T., Willemse M.T.M. Ultrastructural characterization of apospory in *Panicum maximum* // *Sexual Plant Reproduction*, 1995, V.8. – P.197-204.
- 19 Araujo A.C., Mukhambetzhonov S.K., Pozzobon M.T., Carneiro V.T. Female gametophyte development in apomictic and sexual *Brachiaria brizantha* (Poaceae) // *Rev. Cytologie Biologie Veg. Bot.*, 2000, V.23. – P.13-28.
- 20 Peel M.D., Carman J.G., Wu L-Z., Wang R.R.C. Meiotic anomalies in hybrids between wheat and apomictic *Elymus rectisetus* (Ness in Lehm.) A. Love & Connor. // *Crop Science*, 1997, V.37. – P.717-723.
- 21 Nogler G.A. Genetics of gametophytic apomixis - A historical sketch // *Polish Botanical Studies*, 1994, V. 8. – P.5-11.
- 22 Grimanelli D., Leblanc O., Perotti E., Grossniklaus U. Developmental genetics of gametophytic apomixis // *Trends in Genetics*, 2001, V.17. – P. 597-604.
- 23 Savidan Y. Genetics and utilization of apomixis for the improvement of Guinea grass (*Panicum maximum*) / *Proc. XIV Int. Grass Cong*, Lexington, KY, USA, 1981. – P.182-184.
- 24 Roche D., Chen Z., Hanna W.W., Ozias-Akins P. Non-mendelian transmission of an apospory-specific genomic region in a reciprocal cross between sexual pearl millet (*Pennisetum glaucum*) and an apomictic F1 (*P.glaucum* x *P. squamulatum*) // *Sexual Plant Reproduction*, 2001, V.13. – P.217-223.
- 25 Valle C.B., Glienke C., Leguizamón G.C. Inheritance of apomixis in *Brachiaria*, a tropical forage grass // *Apomixis Newsletter*, 1994, V.7. – P.42-43.
- 26 Leblanc O., Hernández M., Bello S., García V., Bertaud J., Savidan Y. Chromosome doubling in *Tripsacum*: the production of artificial, sexual tetraploid plants // *Plant Breeding*, 1995, V.114. – P.226-230.
- 27 Grimanelli D., Leblanc O., Espinosa E., Perotti E., Gonzales D., Savidan Y. Non-Mendelian transmission of apomixis in maize-*Tripsacum* hybrids caused by a transmission ratio distortion // *Heredity*, 1998, V.80. – P.40-47.
- 28 Grimanelli D., Leblanc O., Espinosa E., Perotti E., Gonzales D., Savidan Y. Mapping diplosporous apomixis in tetraploid *Tripsacum*: one gene or several genes? // *Heredity*, 1998, V.80. – P.33-39.
- 29 Ozias-Akins P., Roche D., Hanna W.W. Tight clustering and hemizygosity of apomixis-linked molecular markers in *Pennisetum squamulatum* implies genetic control of apospory by a divergent locus that may have no allelic form in sexual genotypes // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1998, V.95. – P.5127-5132.
- 30 Goel S., Chen Z., Conner J.A., Akiyama Y., Hanna W.W., Ozias-Akins P. Delineation by fluorescence in situ hybridization of a single hemizygous chromosomal region associated with aposporous embryo sac formation in *Pennisetum squamulatum* and *Cenchrus ciliaris* // *Genetics*, 2003, V.163. – P.1069-1082.
- 31 Stein J., Quarín C.L., Martínez E.J., Pessino S.C., Ortiz J-P A. Tetraploid races of *Paspalum notatum* show polysomic inheritance and preferential chromosome pairing around the apospory-controlling locus // *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, V.109. – P.186-191.
- 32 Risso-Pascotto C., Mendes D.V., Silva N., Pagliarini M.S., Valle C.B. Evidence of allopolyploidy in *Brachiaria brizantha* (Poaceae: Paniceae) through chromosome arrangement at metaphase plate during microsporogenesis // *Genet. Mol. Res.*, 2006, V.5. – P.797-803.
- 33 Pupilli F., Martínez E.J., Busti A., Calderini O., Quarín C.L., Arcioni S. Comparative mapping reveals partial conservation of synteny at the apomixis locus in *Paspalum* spp. // *Molecular Genetics & Genomics*, 2004, V.270. – P. 539-548.

- 34 Noyes R.D., Rieseberg L.H. Two independent loci control agamospermy (apomixis) in the triploid flowering plant *Erigeron annuus* // *Genetics*, 2000, V. 155. – P.379-390.
- 35 Matzk F., Prodanovic S., Baumlein H., Schubert I. The inheritance of apomixis in *Poa pratensis* confirms a five locus model with differences in gene expressivity and penetrance // *Plant Cell*, 2005, V.17. – P.13-24.
- 36 Albertini E., Barcaccia G., Mazzucato A., Sharbel T.F., Falcinelli M. Apomixis in the era of biotechnology / In *Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives: V. 1* Berlin: Springer Verlag, 2009 (In press).
- 37 Kranz E., Scholten S. In vitro fertilization: analysis of early post-fertilization development using cytological and molecular techniques // *Sexual Plant Reprod.*, 2008, V.21.–P.67-77.
- 38 Wang W.H. Advances in induction of gynogenesis in vitro by unpollinated ovary and ovule culture // *Chinese Bulletin of Botany*, 2005, V.22. – P.108-117.
- 39 Spillane C., Curtis M.D., Grossniklaus U. Apomixis technology development-virgin births in farmers' fields? // *Nature Biotechnology*, 2004, V.22. – P.687-691.
- 40 Humphreys M.O. Molecular breeding for the genetic improvement of forage crops and turf. *Proc. 4th Intl. Symp. Mol. Breed. Forage Turf, a Sat. Workshop of the XXth Intl. Grassland Cong. July 2005, Aberystwyth, Wales, UK.*
- 41 Albertini E., Marconi G., Barcaccia G., Raggi L., Falcinelli M. Isolation of candidate genes for apomixis in *Poa pratensis* L. // *Plant Molecular Biology*, 2004, V.56. – P.879-894.
- 42 Savidan Y. Transfer of apomixis through wide crosses. In: Savidan Y, Carman J.G, Dresselhaus T. (eds). *The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering. CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR), Mexico, DF, 2001. – P.153-166.*
- 43 Hanna W.W., Dujardin M., Ozias-Akins P., Lubbers E., Arthur L. Reproduction, cytology and fertility of pearl millet x *Pennisetum squamulatum* BC4 plants // *Journal of Heredity*, 1993, V.84. – P.213-216.
- 44 Sato H., Shimizu N., Nakagawa H., Nakajima K. A new registered cultivar "Natsukase" of guineagrass // *Japan Agricultural Research Quarterly*, 1990, V. 23. – P.196-201.
- 45 Russell S.D., Dresselhaus T. Deciphering molecular mechanisms of fertilization in seed plants // *Sexual Plant Reprod.*, 2008, V.21. – P.1-8.
- 46 Ebina M., Nakagawa H., Yamamoto T., Araya H., Tsuruta S., Takahara M., Nakajima K. Co-segregation of AFLP and RAPD markers to apospory in guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.) // *Grassland-Science*, 2005, V.51. – P. 71-78.
- 47 Pessino S.C., Ortiz J.P.A., Leblanc O., Valle C.B., Evans C., Hayward M.D. Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria* // *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, V.94. – P.439-444.
- 48 Albertini E., Marconi G., Reale L., Barcaccia G., Porceddu A., Ferranti F., Falcinelli M. SERK and APOSTART. Candidate genes for apomixis in *Poa pratensis* // *Plant Physiology*, 2005, V.138. – P.2185-2199.
- 49 Chen L., Guan L., Seo M., Hoffmann F., Adachi T. Developmental expression of ASG-1 during gametogenesis in apomictic guinea grass (*Panicum maximum*) // *Journal of Plant Physiology*, 2005, V.162. – P.1141-1148.
- 50 Chen L., Guan L., Seo M., Hoffmann F., Adachi T. Developmental expression of ASG-1 during gametogenesis in apomictic guinea grass (*Panicum maximum*) // *Journal of Plant Physiology*, 2005, V.162. – P.1141-1148.

Тұжырым

Мақалада дара жанғақ өсімдіктер туыстастарындағы апомиксис құбылысы туралы зерттеулердің қысқаша шоулы келтірілген, апомиксисің молекулалық-генетикалық сипаттамасының соңғы кездегі жетістіктері және апомиксисті селекция мен биотехнологияда қолданауды қарастырылған.

Резюме

В статье дан краткий обзор состояния исследований явления апомиксиса у однодольных растений, приводятся последние достижения в изучении молекулярно-генетических характеристик апомиксиса, а так же его использования в селекции и биотехнологии растений.

УДК 577.217.5:577.218:578.821.2

Аймбетов Р.С.¹, Полимбетова Л.², Станбекова Г.², Бисенбаев А.К.¹, Искаков Б.К.²

ХАРАКТЕРИСТИКА И АМПЛИФИКАЦИЯ ГЕНА АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ЧЕЛОВЕКА

¹Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии

Казахский национальный университет им. аль-Фараби

²Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина ЦБИ КН МОН РК)

Выявлены скрытые сигналы сплайсинга согласно правилам процессинга молекул пре-мРНК в ядрах клеток растений. Проведен подбор оптимального вектора для клонирования кДНК АФПЧ и компьютерное моделирование рекомбинантной кассетной конструкции, содержащей гистидиновую метку (His-tag) на С-конце белка. Проведена амплификация кДНК АФПЧ с помощью реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Альфа-фетопротеин (АФП) - наиболее известный эмбриоспецифический белок, характерный для эмбрионального периода развития всех представителей класса млекопитающих, и, возможно, всех позвоночных. Он является также наиболее известным опухолевым маркером, обнаруживаемым с высокой специфичностью у больных с первичным раком печени и тератокарциномой, а также в 15% случаев острого гепатита, в отдельных случаях рака желудка и панкреатобластомы, хронического гепатита и цирроза печени [1].

Альфа-фетопротеин принадлежит к семейству белков альбуминоидных генов, наряду с сывороточным альбумином, витамин Д-связывающим белком и, обнаруженным относительно недавно, альфа-альбумином (афамин). По химической структуре АФП является гликопротеином, содержащим до 3 - 5 % углеводов. Молекулярная масса этого белка колеблется в пределах 68-73 кДа, в зависимости от содержания углеводов и вида животного, из которого он был выделен [2].

АФП проявляет свойства транспортного белка. Биохимические свойства АФП указывают на его родство с рядом ключевых регуляторных молекул в организме. АФП способен направленно доставлять регуляторные сигналы в клетки, имеющие рецепторы к АФП [3]. Методами биоинформатики – путем сравнения первичных структур АФП и ряда других белков в составе АФП выявлено более двадцати функционально важных участков [4]. Обнаружение в составе альфа-фетопротеина (АФП) множества функционально важных участков позволяет сделать предположение о том, что альфа-фетопротеин является резервуаром биологически активных пептидов, которыми он обеспечивает растущие эмбриональные ткани. В этом может заключаться основное биологическое значение АФП в эмбриогенезе. Показано, что 40-70% раковых клеток имеют специфические рецепторы для АФП. Это открывает возможность использования АФП для направленной доставки терапевтических агентов к раковым клеткам.

Таким образом, имеются веские аргументы о высокой эффективности клинического использования АФПЧ в медицине, в том числе для направленной терапии рака. Однако эти перспективы ограничены из-за существующего дефицита очищенного сывороточного АФПЧ. Создание трансгенных систем продуцентов рекомбинантного АФП является наилучшим подходом для решения этих проблем.

Целью работы является характеристика и амплификация гена альфа-фетопротеина человека (АФПЧ).

Материалы и методы

В качестве материала для выделения нуклеиновых кислот использовали гепатоцеллюлярной карциномы человека линии HepG2. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей геномного гена и матричной РНК, кодирующих АФПЧ, проводили с помощью компьютерных программ “MicroGenie”, «GeneRunner», «VNTI Viewer», «NetGene2». Реакцию обратной транскрипции проводили с помощью РНК-зависимой ДНК-полимеразы AMV-RT фирмы “Promega”. Полимеразную цепную реакцию проводили, как описано ранее [5]. Генетические конструкции, содержащие ген АФПЧ получали с применением стандартных методов генетической инженерии. В работе использовали рекомбинантную плазмиду pY-GUS-TMV.

Результаты и их обсуждение

К настоящему времени известна полная нуклеотидная последовательность геномной геномного гена и мРНК. Геномный ген АФПЧ (accession number M16110 в банке генов; entry name EMBL: HSAFP3) имеет длину – 27 553 нуклеотидов и в этом гене содержатся сигналы инициации (промотор) и терминации (поли А - сайт) транскрипции, а также 14 интронов. Ввиду огромной длины и наличия большого число интронов экспрессия геномного гена АФПЧ не представляется возможной в растительных или микробных клетках ни *in vitro* ни *in vivo*.

Далее мы проводили компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей мРНК (кДНК) гена АФПЧ (accession number BC027881 в банке генов; entry name EMBL:BC027881). Длина клонированного кДНК гена составляет 2 098 нуклеотидов и в этом гене содержатся 5'- и 3' нетранслируемые последовательности (5'- и 3' НТП длиной 30 и 157 нуклеотидов соответственно), а также открытая рамка считывания (ОРС длиной 1827 нуклеотидов), кодирующая полипептид с молекулярной массой 68 685 Да.

С целью выяснения содержит ли последовательность кДНК АФПЧ растительные сигналы сплайсинга, нами проведен ее компьютерный анализ с помощью программы NetGene2 v.2.4 по алгоритму, предназначенному для поиска интронов в геномных генах модельного растения *Arabidopsis thaliana*. Этот анализ представляется весьма важным, поскольку присутствие таких молчащих сигналов в транскриптах может привести к альтернативным вариантам сплайсинга и образованию некорректных мРНК [6], которые будут неспособны кодировать функциональный белок АФПЧ. В таблице 1 приведен результат такого анализа. Анализ сигналов сплайсинга предсказал наличие в мРНК АФПЧ 3-х донорных сайтов сплайсинга.

Таблица 1 – Результаты компьютерного анализа по предсказанию наличия сигналов сплайсинга в ядрах клеток растений

Донорные сайты сплайсинга в прямой цепи				
Позиция в направлении 5' → 3'	Фаза	Цепь	Достоверность в долях единицы	5' экзон ^ интрон 3'
518 ^ 519	2	+	0.90	AUCCCUUCCU ^ GUAUGCACCU
973 ^ 974	1	+	0.81	AAACCUGAAG ^ GUCUAUCUCC
1902 ^ 1903	2	+	0.90	CUUUCAUUCG ^ GUGUGAACUU
Акцепторные сайты сплайсинга в прямой цепи				
Позиция в направлении 5' → 3'	Фаза	Цепь	Достоверность в долях единицы	5' экзон ^ интрон 3'
---	---	+	---	----- ^ -----

Обозначения: знаком «^» обозначены точки, где должно происходить расщепление транскрипта в пределах сайта сплайсинга.

Первый (между нуклеотидами 518 и 519) и второй (между нуклеотидами 973 и 974) сайты сплайсинга могут нарушать структуру первичного транскрипта, поэтому необходимо изменить эти сайты сплайсинга в составе кДНК - гена АФПЧ, с тем чтобы, но не нарушить аминокислотную последовательность белка. Следует отметить, что третий сайт сплайсинга (между нуклеотидами 1902 и 1903) находится за пределами открытой рамки считывания (т.е. после стоп кодона) и, поэтому он не будет амплифицирован в кДНК АФПЧ. Акцепторные сайты сплайсинга в прямой цепи не обнаружены.

Прежде чем клонировать ген необходимо решить, какая экспрессия целевого белка необходима – внутриклеточная или экскреторная [7]. Обычно для этих целей используется компьютерный анализ на наличие сигнальных пептидов определяющих внутриклеточную локализацию целевого белка. В нашем случае, результаты компьютерного анализа по предсказанию внутриклеточной локализации белка АФПЧ, показало, что в клетках животных большая часть синтезированного белка АФПЧ должна локализоваться во внешней плазматической мембране и за ее пределами, что хорошо согласуется с тем фактом, что АФПЧ действительно является секретируемым белком (таблица 2).

Таблица 2 – Сравнение результатов компьютерного анализа по предсказанию внутриклеточной локализации белка АФПЧ в клетках животных и растений

Тип клеток	Внутриклеточные компартменты				
	Внешняя мембрана и секреция	Цитоплазма	Ядро	Эндоплазматический ретикулум	Хлоропласты
Животных	67 %	23 %	5 %	5 %	–
Растений	15 %	14 %	39 %	9 %	23 %

На рисунке 1 представлена аминокислотная последовательность белка АФПЧ в однобуквенной кодировке. Открытая рамка считывания (ОРС) насчитывает 610 кодонов, начиная со стартового AUG-кодона, кодирующего метионин (М) и заканчивая стоп-кодоном (#). Анализ аминокислотной последовательности АФПЧ (609 аминокислот) выявил наличие нативного сигнального пептида с сайтом протеолиза между Arg₁₉ (R) и Thr₂₀ (T).

Анализ той же аминокислотной последовательности (рисунок 1), проведенный по алгоритму, характерному для клеток растений, предсказал совсем другую компартментализацию АФПЧ: большая часть синтезированного белка ожидается в ядре и хлоропластах, а секретироваться из клеток будут не более 15% белка.

В связи с этим для клонирования гена АФПЧ необходимы эксперименты по *in vitro*-мутагенезу кДНК-гена АФПЧ, с тем чтобы заменить его собственный сигнальный пептид на аналогичную последовательность от растительного секретлируемого белка.

Необходимо отметить, что секреция белка, как правило, более предпочтительна, так как облегчает последующую его очистку. В связи с этим, нами проведен химический синтез и очистка олигонуклеотидов для клонирования сигнального пептида растительного секретлируемого белка с целью обеспечить апопластную локализацию рекомбинантного АФПЧ. Последовательности этих олигонуклеотидов приведены на рисунке 2-В.

Как видно из рисунка 2 – А для амплификации были использованы два олигонуклеотидных праймера: смысловой праймер, содержащий сайт узнавания рестриктазой NcoI (подчеркнут), и антисмысловый праймер, содержащий сайт XhoI (подчеркнут) и растительный сигнальный пептид для обеспечения апопластной локализации.

1	M KWVESIFLI FLLNFTESR*TLHRNEYGIAS ILDSYQCTAE	40
41	ISLADLATIF FAQFVQEATY KEVSKMVKDA LTAIEKPTGD	80
81	EQSSGCLNQ LPAFLEELCH EKEILEKYGH SDCCSQSEEG	120
121	RHNCFLAHKK PTPASIPLFQ VPEPVTSC EA YEEDRETFMN	160
161	KFIYEIARRH PFLYAPTILL WAARYDKIIP SCCKAENAVE	200
201	CFQTKAATVT KELRESSLLN QHACAVMKNF GTRTFQAITV	240
241	TKLSQKFTKV NFTEIQKLVL DVAHVHEHCC RGDVLDCLQD	280
281	GEKIMSYICS QQDTLSNKIT ECCKLTTLER GQCIIHAEND	320
321	EKPEGLSPNL NRFLGDRDFN QFSSGEKNIF LASFVHEYSR	360
361	RHPQLAVSVI LRVAKG YQEL LEKCFQTENP LECQDKGEEE	400
401	LQKYIQESQA LAKRSCGLFQ KLGEYYLQNA FLVAYTKKAP	440
441	QLTSSELMAI TRKMAATAAT CCQLSEDKLL ACGEGAADII	480
481	IGHLCIRHEM TPVNPVGVC CTSSYANRRP CFSSLVVD ET	520
521	YVPPAFSDDK FIFHKDLCQA QGVALQTMKQ EFLINLVKQK	560
561	PQITEEQLEA VIADFSGLLE KCCQGQEQEV CFAEEGQKLI	600
601	SKTRAALGV#	610

Обозначения: первая аминокислота – метионин (**М**) выделена жирным шрифтом и одинарным подчеркиванием. Место отщепления сигнального пептида указано звездочкой (*). Знаком # обозначено положение стоп-кодона. Цифрами указаны положения аминокислот начиная с N-конца.

Рисунок 1 - Аминокислотная последовательность альфа-фетопротеина человека

Анализ той же аминокислотной последовательности (рисунок 1), проведенный по алгоритму, характерному для клеток растений, предсказал совсем другую компартментализацию АФПЧ:

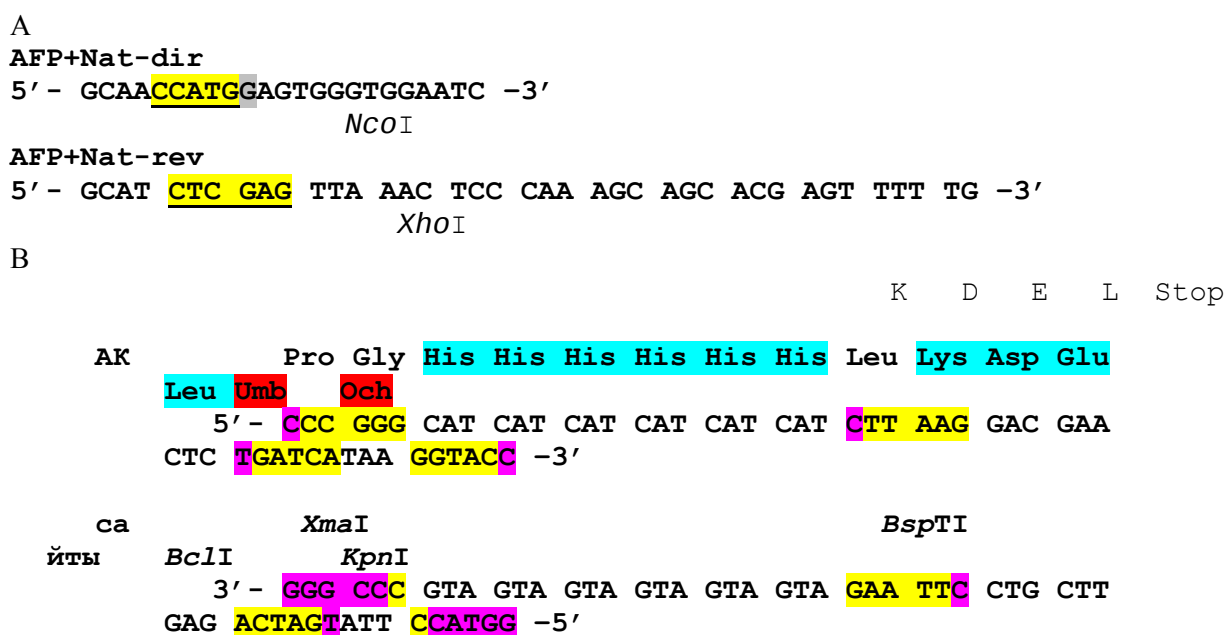
большая часть синтезированного белка ожидается в ядре и хлоропластах, а секретироваться из клеток будут не более 15% белка.

В связи с этим для клонирования гена АФПЧ необходимы эксперименты по *in vitro*- мутагенезу кДНК-гена АФПЧ, с тем чтобы заменить его собственный сигнальный пептид на аналогичную последовательность от растительного секретируемого белка.

Необходимо отметить, что секреция белка, как правило, более предпочтительна, так как облегчает последующую его очистку. В связи с этим, нами проведен химический синтез и очистка олигонуклеотидов для клонирования сигнального пептида растительного секретируемого белка с целью обеспечить апопластную локализацию рекомбинантного АФПЧ. Последовательности этих олигонуклеотидов приведены на рисунке 2-В.

Как видно из рисунка 2 – А для амплификации были использованы два олигонуклеотидных праймера: смысловой праймер, содержащий сайт узнавания рестриктазой *NcoI* (подчеркнут), и антисмысловой праймер, содержащий сайт *XhoI* (подчеркнут) и растительный сигнальный пептид для обеспечения апопластной локализации.

При невысоком уровне экспрессии естественны затруднения с очисткой экспрессионного продукта. Поэтому для упрощения процедуры очистки удобно работать с белком, содержащим полигистидиновую метку - это позволяет использовать метод аффинной хроматографии на металл - координированных (Ni, Co) сорбентах с имидазолом в качестве элюента. Метка обычно вводится генно-инженерным образом, а также применяется как N-, так и С-терминальное ее положение. Ввиду того, что до сих пор не предпринималось, попыток разработки экспрессионной системы для целого АФПЧ, не существует прямых экспериментальных данных, позволяющих сделать выбор в пользу предпочтительности N- или же С-концевого расположения полигистидиновой метки. На данном этапе работы был сделан выбор в пользу С-концевого расположения последовательности 6gHis относительно полипептида АФПЧ (рисунок 1-В).



А - Праймеры для синтеза кДНК АФПЧ с предполагаемыми сайтами клонирования и сигнальным пептидом для обеспечения апопластной локализации.

В - 3' – концевая полигистидиновая метка (His-tag)

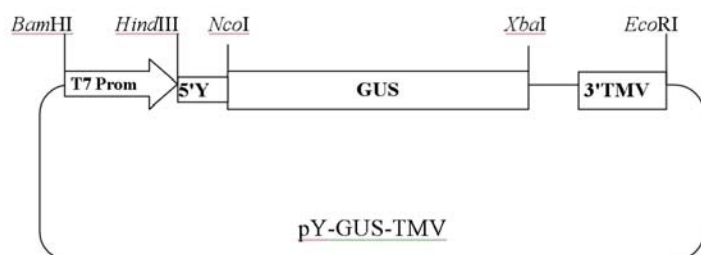
АК – аминокислоты; Сайты – сайты рестрикции соответствующих ферментов; Stop – стоп кодон; KDEL – последовательность в 3'-концевой области целевого гена, кодирующая аминокислоты С - концевой области белка, способные закреплять продукт целевого гена в эндоплазматическом ретикулуме и предотвращать его протеолитическое расщепление;

Рисунок 2 - Олигонуклеотидные праймеры для амплификации АФПЧ

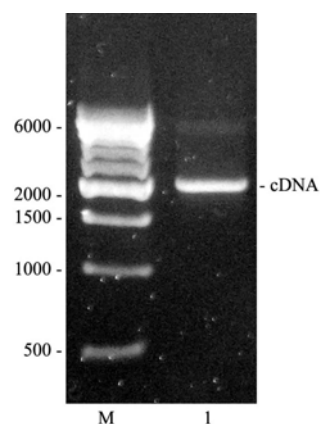
Методами молекулярного клонирования были сконструированы экспрессионный вектор с кассетой из регуляторных элементов для экспрессии различных генов в бесклеточных системах, а также в клетках прокариот (рисунок 3) анализом.

Структура данного вектора позволяет легко проводить клонирование целевых генов, а также

проводить замены регуляторных элементов, контролирующих экспрессию целевого гена. Эти векторы также, выгодно отличались от существующих рекомбинантных конструкций тем, что ввели в их состав разработанные нами ранее трансляционные энхансеры (усилители), которые локализуются в пределах 5'- и 3'-нетранслируемых последовательностей мРНК [8]. Корректность сборки полученных векторов была доказана рестрикционным анализом (данные не показаны).



вектор pY-GUS-TMV размером около 5 тпн содержит в своем составе промотор бактериофага Т7 (T7 Prom), 5'-НТПП Y-вируса картофеля (5'Y), ген β-глюкуронидазы (GUS) и 3'-НТПП вируса табачной мозаики (3'TMV).



1 – продукт последовательных реакций РОТ и ПЦР; М – маркерные ДНК, размеры которых указаны в нуклеотидах слева. Справа указано положение кДНК АФПЧ.

Рисунок 3 – Схематичное изображение вектора pY-GUS-TMV

Рисунок 4 - Амплификация кДНК АФПЧ

кДНК, кодирующий АФПЧ, получали методом ОТ - ПЦР, используя в качестве матрицы геномную ДНК гепатоцеллюлярной карциномы человека линии НерG2. Для амплификации были использованы олигонуклеотидные праймеры указанные на рисунке 2.

Результаты этих экспериментов показаны на рисунке 2. Из приведенной электрофореграммы видно, что главным продуктом амплификации является кДНК с ожидаемым размером около 2000 пар нуклеотидов, которая, по всей видимости, кодирует белок АФПЧ.

В результате проведенных исследований проведен компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей геномного гена АФПЧ. Выявлены скрытые сигналы сплайсинга согласно правилам процессинга молекул пре-мРНК в ядрах клеток растений. Обнаружены донорные сайты сплайсинга в пределах белок-кодирующей области, а также в регуляторных сегментах общей рекомбинантной кассеты, предназначенной для экспрессии данного гена в растениях. Анализ аминокислотной последовательности АФПЧ выявил наличие нативного сигнального пептида (СП) с сайтом протеолиза между Arg₁₉ и Thr₂₀. Однако этот сигнальный пептид не может обеспечивать секрецию АФПЧ из клеток растений. Проведен подбор оптимального вектора для клонирования кДНК АФПЧ и компьютерное моделирование рекомбинантной кассетной конструкции, содержащей гистициновую метку (His-tag) на С-конце белка. Проведена амплификация кДНК АФПЧ с помощью реакции обратной транскрипции (РОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Проведен электрофоретический анализ продуктов амплификации кДНК АФПЧ.

Литература

- 1 Abelev G. Alpha-fetoprotein: 25 years of study // *Tumor Biol.* 1989. V. 10. P. 63-74.
- 2 Torres J.M., Darracq N., Uriel J. Membrane proteins from lymphoblastoid cells showing cross-affinity for alpha-fetoprotein and albumin. Isolation and characterization // *Biochim.Biophys. Acta.* 1992. v.1159. P. 60-66.
- 3 Nunez E.A. Biological role of alpha-fetoprotein in the endocrinological field: data and hypotheses. // *Tumor Biol.* 1994. v. 15. P. 63-72.
- 4 Mizejewski GJ Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants // *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.).* 2001. v 226 (5): 377–408.
- 5 Аймбетов Р.С., Полимбетова Н.С., Бисенбаев А.К., Искаков Б.К. Амплификация гена альфа-фетопротейна человека для экспрессии в трансгенных растениях// *Вестник КазНУ. Серия биолог.* - 2008. - №1(36). - С. 89-90.

6 Brown J. W. S. and Simpson C. G. *Splice site selection in plant pre-mRNA splicing* . // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 1998.v.49: 77-95 .

7 Punchapat S., Norene B. and Hugh S. M. *A plant signal peptide–hepatitis B surface antigen fusion protein with enhanced stability and immunogenicity expressed in plant cells* // *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2003. v.100 (5). 2209 –2214.

8 Akbergenov R., Zhanybekova S., Polimbetova N., Madin K., Hohn T., Iskakov B. *Complementary interaction between the central domain of 18S rRNA and the 5' untranslated region of mRNA enhances translation efficiency in plants* // In: “Cell-Free Protein Expression”, Ed. J.R. Swartz, Springer-Verlag. - 2003. - P. 199-208.

Summary

The latent signals of splice site according to rules of processing of pre-mRNA in nucleus of plant cells was revealed. Optimal vector for cloning cDNA of HAFP and computer modeling of recombinant constructions design containing his-tag on the C - end of protein has been carried out. Amplification cDNA of HAFP by RT – PCR has been carried out.

Тұжырым

Өсімдік клеткасының ядросындағы пре-мРНК молекуласының процессингі заңдылығы негізінде жасырын сплайсинг сигналдары айқындалды. Адам альфа-фетопротеин генінің кДНК-сын клондауға қажет оптималды вектор таңдалыны, белоктың С – соңында гистидинтің таңба бар (His-tag) рекомбинантты конструкция компьютерлік жолмен сипатталды. Адам альфа-фетопротеин кДНК – сы кері транскрипция және тізбекті полимеразалық реакция арқылы бөлініп алынды.

Байқошқарова С.Б.

ДЕНЕДЕН ТЫС ҰРЫҚТАНДЫРУ БАҒДАРЛАМАСЫНДА АНЕУПЛОИДТЫ АБЕРРАЦИЯЛАРДЫ АНЫҚТАУ

(«Экомед» адам ағзасынан тыс ұрықтандыру емханасы)

FISH-диагностиканы жүргізу барысында анықталған анеуплоидиялардың жиілігі мен кейбір физиологиялық факторлар арасында тәуелділік бар екендігі белгілі болды, сонымен қатар олардың жиілігіне репродуктивтік анамнездің әсер ететіндігі анықталды.

1967 жылы R.Edwards және R.Gardner клиникалық тәжірибеде бірінші рет имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика (ИГД) әдісін қоян эмбрионының жынысын анықтау үшін қолданды [1]. Сол кездің өзінде ИГД-ны адамда генетикалық аурулардың тұқым қуалауын шектеу үшін пайдалану ойлары туындаған болатын. 80 ж. аяғында осы әдісті тұқым қуалаушылық ауруларды өзінің ұрпағына берілу қаупі жоғары ерлі-зайыпты жұптарға көмектесу мақсатында қолданылды [2,3,4].

90 ж. басында қарай, жеке жасушалардағы мутацияларды анықтауға мүмкіндік беретін, полимеразды тізбектік реакция (ПТР) әдісі ойлап табылды [5]. 1990 ж. бірінші болып адамға ПТР әдісін имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика жүргізу мақсатында A.Handyside және оның әріптестері қолданған. Олар Х-хромосомасымен тіркескен аурулары бар ерлі-зайыпты жұптардың эмбриондарының жынысын анықтау мақсатында, ПТР әдісінің негізінде Y-хромосомасын сипаттайтын нуклеотидтердің спецификалық тізбектерін зерттеген болатын [6]. Бірақ эмбриондарды анықтау барысында жалған диагноз қою қаупі бар болғандықтан ПТР-дан біртіндеп *in situ* жағдайындағы флуоресценттік гибридизация (FISH) жасау әдісіне ауыса бастады. Бұл әдістің артықшылығы Х және Y-хромосомаларын бір уақытта анықтауға болады. Осының арқасында эмбриондардың тек жынысын анықтаумен ғана емес, сонымен қатар жыныс хромосомаларының анеуплоидиясын да анықтауға мүмкіншілік туады [7].

Бүгінгі күні генетикалық аномалиялары бар балаларды туу қаупі бар, әйелдер тобын анықтайтын скринингтік бағдарламалардың елеулі дәрежеде жетілдірілуіне қарамастан, жаңа жағдайлар мәселелердің жаңа шешімін талап етеді. Бедеулікке шалдыққан ерлі-зайыпты жұптарға ИГД жүргізу арқылы, қосалқы репродуктивтік технологиялардың көмегімен олардың емделуін елеулі дәрежеде жоғарлатуға болады. Сонымен қатар тұқым қуалайтын аурулары бар балалардың туылуын шектеуге мүмкіндік береді [8,9]. Инвазивті пренатальдық диагностика әдістерінің көмегімен ұрықтың генетикалық ауруларын анықтағанда, жүктілікті тоқтату қажеттілігі пайда болуы мүмкін. Ал имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика әдісі бастапқыдан сау эмбриондармен жүкті болуды көздейді.

ИГД жүргізуге көрсетілетін жағдайлар:

1. Хромосомалық немесе гендік аурулары бар болса, немесе осы аурулар бойынша тасымалдаушы болса, генетикалық патологиясы бар бала туу қауіпін азайту мақсатында:
 - Клайнфельтер, Шершевский-Тернер және т.б. синдромдары бойынша мозаицизм болса;
 - Кариотипте Робертсондық транслокациялар, маркерлік хромосомалар және т.б. қайтақұрылымдар болған жағдайда;
 - муковисцидоз, гемофилия, Гентингтон ауруы сияқты және т.б. моногендік аурулармен ауыратын жағдайда немесе осы аурулар бойынша тасымалдаушы болса.
2. Кариотиптерінде хромосомалар санының аномалиялары бар эмбриондарды «жіктеу» көмегімен, денеден тыс ұрықтандыру (ДТҰ) бағдарламасының тиімділігін арттыру мақсатында:
 - әйелдердің жасы 35тен жоғары болғанда;
 - Нашар ДТҰ болжамы бар әйелдерге (жүктіліктің ерте мерзімдерінде үш немесе одан да көп өздігінен болған түсіктер болса);
 - үш немесе одан да көп сәтсіз аяқталған ДТҰ/ИКСИ бағдарламалары болса;
 - еркектердің сперматогенез үрдісінде ауыр бұзылыстар болса [10,11].

Жоғарыда келтірілген генетикалық көрсеткіштер тізімі ИГД әдісінің жетілдірілуіне және оның кең мүмкіндіктеріне байланысты жыл сайын толықтырылып отыратыны анық.

Зерзаттары және әдістері

Біздің жүргізілген зерттеулерімізде анеуплоидтық абберацияларды FISH әдісінің көмегімен анықтадық, ол үшін 13, 18, 21, X, Y хромосомаларын анықтауға арналған «Vysis» фирмасының Multivysion PGT ДНҚ-зондтарын қолдандық. Зерттеу жұмысына ДТҰ (денеден тыс ұрықтандыру) және ИГД (имплантацияға дейінгі генетикалық диагностика) бағдарламаларынан өткен 54 әйел іріктелініп алынды. Біздер өз тәжірибелерімізде жас көрсеткіштеріне тәуелсіз әйелдерді репродуктивтік статусы бойынша үш топқа (донорлық ооциттер қолданған әйелдер тобы, бедеу әйелдер тобы, еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы, соңғы топта әйелдерінің репродуктивтік жүйесі қалыпты болған) бөлдік. Бірінші кестеде зерттеуге алынған әйелдерге жалпы сипаттама берілген. Эмбриондардың ИГД жасау әдістемесі екі сатыдан тұрады – бластомер биопсиясы және бластомердің фиксацияланған ядросын молекулалық-цитогенетикалық FISH-әдісімен зерттеу.

Кесте 1 - ДТҰ және ИГД бағдарламаларынан өткен әйелдерге жалпы сипаттама

Көрсеткіштер	Донорлық бағдарламалар	Бедеу әйелдер тобы	Еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы
Әйелдер саны	23	17	14
Әйелдердің орташа жасы	25,4	37,5	33,2
ДТҰ циклдерінің саны	25	20	17
Алынған эмбриондар саны	298	119	96

Әдетте үшінші тәулікте лабораториялық жағдайда әрбір эмбрионнан Narishige фирмасының микроманипуляторларының көмегімен бір бластомер алынады. Ядро фиксация жасалғаннан кейін, заттық шыныдағы орнын алмазды қаламның көмегімен белгілейміз. Әрі қарай ерлі-зайыпты жұптың анамнезіне байланысты қажетті хромосомаларға FISH-диагностика жүргізіледі. Осы FISH-диагностиканың нәтижелері бойынша әйелдің жатыр қуысына 1-2 генетикалық жағынан «сау» деп танылған эмбриондар тасымалданады.

Нәтижелері және оларды талдау

ДТҰ бағдарламаларында алынған эмбриондардың генетикалық бұзылыстарын анықтау мақсатында жүргізілген зерттеудің нәтижелері бойынша әйелдердің үш тобында келесідей ажырау байқалған. Бірінші және екінші топтың әйелдерінде хромосомдық абберациялардың жиілігі ұқсас болды, сәйкесінше оларда эмбриондардың 45,6 және 49,8% әртүрлі аномалиялар болған, ал үшінші топта ол көрсеткіш 37,8% құрады. Ал анеуплоидтық бұзылыстар арасында екінші топта трисомиялар басым болса, бірінші топта моносомиялар мен трисомиялардың жиілігі шамамен бір деңгейде болды. Жүргізілген зерттеудің нәтижелері бірінші кестеде көрсетілген. Біздің болжамымыз бойынша, мұндай нәтижелер келесідей себептермен түсіндірілуі мүмкін. Екінші топта анеуплоидиялардың басым кездесуі бұл топтағы әйелдердің біріншіден жасына (бұл топтағы әйелдердің орташа жасы 37,5

құрады) байланысты болса, ал екінші жағынан бедеулігі бар әйелдерде өзіндік эндогендік бұзылыстары бар екендігі жоққа шығарылмайды. Соның ішінде атап айтқанда олардың кариотипінде әртүрлі транслокациялар болуы мүмкін, өйкені бұл топтағы әйелдерде бірнеше сәтсіз аяқталған ДТҰ циклдарының болуы олардың кариотиптерінің қалыпты екендігінде күмән туғызады. Бұл нәтижелер ДТҰ+ИГД бағдарламасынан өтетін ерлі-зайыпты жұптардың перифериялық қанындағы лимфоциттерге цитогенетикалық зерттеу жүргізу қажеттігі бар екендігін көрсетеді. Ал бірінші топта анеуплоидиялардың мұндай жоғары деңгейдегі көрсеткіштері жасқа байланысы жоқ екені анық (бұл топтағы әйелдердің орташа жасы 25,4 құрады). Біздің болжамымыз бойынша донорлық бағдарламалардағы аналық жыныс бездерінің экзогендік гормональдық жүктеуге шамадан тыс жауап беруі нәтижесінде алынатын көп мөлшердегі ооциттердің сапасы төмен болуы мүмкін. Себебі аналық жыныс бездерінің мұндай гормональдық жүктеуге физиологиялық жағынан тән емес асқын жауабы ооциттердің қалыпты пісіп жетілуіне қажетті жағдайлардың орындалуына кедергі жасайды, сонымен қатар донор әйелдердің бірнеше рет гормональдық жүктеуден өтуі оогенез үрдісінің қалыпты орындалуына теріс әсер беруі мүмкін. Нәтижесінде, ДТҰ бағдарламаларында алынатын ооциттердегі генетикалық аномалиялардың пайда болуына әкелетін жағымсыз жағдайлар туындауы мүмкін. Осы орайда донорлық ооциттер қолданылатын бағдарламаларға қазіргі кездегі қалыптасқан көзқарасты өзгерту керек.

Сонымен бірге эмбриондардың бластоцистаға айналу көрсеткіші бойынша жүргізілген зерттеу жұмыстарынан алынған мәліметтер келесідей нәтижелер көрсетті. Эуплоидты эмбриондар арасында аталған көрсеткіштің деңгейінің (60,9%; 55,4%; 63,6%) анеуплоидты эмбриондармен салыстырғанда (сәйкесінше 39,1%; 44,6%; 36,4%) жоғары болғанымен, анеуплоидты эмбриондар арасында қалыпты бластоцисталардың пайда болуы эмбриондардың морфологиялық көрсеткіштерінің, генетикалық құрамына сай келмейтініне дәлел бола алады.

Кесте 2 - Әртүрлі әйелдер тобындағы жүргізілген FISH-әдісінің нәтижелері

Көрсеткіштер	Донорлық бағдарламалар	Бедеу әйелдер тобы	Еркектік бедеулігі бар әйелдер тобы
Биопсия жүргізілген эмбриондар саны	282	110	89
FISH-әдісі бойынша анықталған эмбриондар саны	265	101	78
Зерттелген хромосомалар бойынша қалыпты эмбриондар саны	54,4%	50,2%	62,2%
Зерттелген хромосомалар бойынша аномальды эмбриондар саны	45,6%	49,8%	37,8%
Бластоцистаға айналған эмбриондар саны:			
• эуплоидтылар арасында	60,9%	55,4%	63,6%
• анеуплоидтылар арасында	39,1%	44,6%	36,4%

ДТҰ бағдарламасының аясында жүргізілген зерттеу жұмысында алынған мәліметтер негізінде келесідей қорытындылар жасауға болады:

1. Әйелдердің жасы мен анеуплоидиялар арасында белгілі бір дәрежеде оң корреляция болатындығы анықталды. Осыған орай ДТҰ бағдарламаларынан өтіп жатқан ерлі-зайыпты жұптардың кариотипіне зерттеу жүргізу ұсынылды.
2. FISH-әдісінің көмегімен анықталатын анеуплоидиялардың жиілігіне әйелдердің репродуктивтік статусы әсер ететіндігі анықталды. Донорлық ооциттер қолданылатын бағдарламаларда ИГД әдісін жүргізу қажеттігі бар екені айтылды.
3. ДТҰ бағдарламаларында алынатын эмбриондардың морфологиялық көрсеткіштері оның генетикалық жиынтығының қалыпты екеніне кепіл бола алмайтыны дәлелденді.

Әдебиеттер

- 1 Edwards R., Gardner R. Sexing of five rabbit blastocysts // *Nature*. 1967. Vol. 214. P. 567-577.
- 2 Гоголевская И.К. Преимплантационная генетическая диагностика: современное состояние и последние научные открытия. «Проблемы репродукции», № 1-1999, с.19-26
- 3 Под ред. Кулакова В. И., Леонова Б.В. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия. М., МИА, 2000, глава 9, с. 230-233
- 4 Элдер К., Дэйл Б. Экстракорпоральное оплодотворение. М., Меднпресс, 2008, с. 265-289
- 5 Saiki R. et al. Enzymatic amplification of β -globin genetic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // *Science*. 1985. Vol. 230. P. 1350-1354.
- 6 Handyside A.H. et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768–770.
- 7 Harper J.C. et al. Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic preimplantation human embryos. *Prenat Diagn* 1995; 15: 41–49.
- 8 Gianaroli Luca. Preimplantation genetic diagnosis: polar body and embryo biopsy // *Human Reproduction*, 2000. – Vol. 15 (Suppl. 4). – P. 69-75
- 9 Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
- 10 Scriven P.N., Flinter F.A., Braude P.R., Mackie Ogilvie C. Robertsonian translocations-reproductive risks and indications for preimplantation genetic diagnosis // *Human Reproduction*, 2001. – Vol. 16. – N 11. – P. 2267-2273.
- 11 Stern C., Pertile M., Norris H., Hale L., G. Baker H.W. Chromosome Translocations I couples with in-vitro fertilization implantation failure // *Human Reproduction*. 1999.– V. 14. – N 8. – P. 2097-2101.

Резюме

При проведении FISH-диагностики была выявлена, зависимость частоты появления анеуплоидий от некоторых физиологических факторов, а также было показано, что репродуктивный анамнез женщины может влиять на их встречаемость.

Summary

During carrying out FISH-diagnostics has been established dependence of frequency occurrence aneuploidies from some physiological factors, and also has been shown, that the reproductive anamnesis of the woman can influence their occurrence.

УДК 575.17: 599.9

Кирикбаева М.С.

ОСНОВНЫЕ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЬСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

(Научный институт акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ РК)

Проведено генетико-демографическое исследование населения 24 сельских округов Жамбылского района по данным брачных записей, заключенных с 2005-2008 гг. Населению сельских округов Жамбылского района характеризуется значительным преобладанием коренного населения – казахами (в среднем по району 79,14%). Среднепопуляционный возраст вступления в брак по сельским округам для мужчин составил $27,25 \pm 0,15$ и варьировался от $26,26 \pm 0,60$ до $29,39 \pm 1,49$, для женщин $23,51 \pm 0,12$ и варьировался от $22,80 \pm 0,95$ до $24,90 \pm 1,21$. По половозрастной структуре популяция относится к растущему типу населения.

Алматинская область занимает площадь, равную 224 тыс.кв.км. Территория включает разнообразные ландшафты. Именно предгорная полоса является важной частью Южного Казахстана в экономическом отношении: там сосредоточено большинство населения. По административному делению состоит из 16 районов. Для характеристики генетико-демографических процессов и структуры генофонда сельского населения Казахстана для обследования был выбран Жамбылский район, расположенный в юго-западной части Алматинской области Республики Казахстан, вблизи от мегаполиса (г. Алматы). Район образован в 1928 году. Районный центр Жамбылского района с. Узынагаш и административное деление состоит из 24 сельских округов. Жамбылский район занимает

площадь, равную 19,32 тыс. кв. км. Район по занимаемой территории находится на четвертом месте в Алматинской области после Балхашского, Алакольского, Караталского района [1].

Одним из очагов промышленного развития был Каргалинский суконный комбинат, который в настоящее время не функционирует. В начале XX века Казахстан, и в частности его южная часть (Жетысу), славился обилием шерсти. Поэтому в 1908г Верненский купец С. Шахворостов и владелец конного завода Ф.Пестов в урочище Каргалы построили фабрику по образцу суконных предприятий европейской части России. Реконструкция и расширение производственной деятельности фабрики дали большой толчок к развитию региона. Открытие научного исследовательского института овцеводства в Мынбаевском сельском округе и конезавода в Дегереском сельском округе способствовало большому потоку мигрантов (русских, украинцев, белорусов, татар, поляков, немцев, и других) в Жамбылский район из всех регионов бывшего Советского Союза в 50-70 годах XX века.

В работе Абдуллаевой А.М. была изучена генетическая структура Жамбылского района на уровне районного центра [2]. Следует отметить, что Жамбылский район имеет в своем составе 24 сельских округа, отличающихся по основным генетико-демографическим параметрам, которые в совокупности составляют сельскую популяцию в целом. В данной работе представлены первые результаты изучения формирования генофонда, его дифференциации на уровне сельских округов как минимальной структурно-административной единицы и районных центров, составляющих в совокупности популяцию района. Для успешного развития регионального медико-генетического консультирования, которое является приоритетным в развитии медико-генетической службы в Республике Казахстан в целом, является значимым проведение исследований генетической структуры всех сельских округов Жамбылского района.

Материалы и методы

Материалом для генетико-демографического исследования послужили 5759 записей за 2005-2008 гг. записи актов о заключении браков архива Областного ЗАГСа ЖР (таблице 1). Из актов записей учитывались сведения о возрасте вступления в брак жениха и невесты, их национальность и место рождение супругов. При обработке брачных записей из рассмотрения исключались пары, в которых хотя бы один из супругов достиг пострепродуктивного возраста. Нами учитывались итоги переписи населения 1999 года в РК и данные краткого статистического ежегодника за 2008 г. В работе использовались стандартные методы популяционно-статистического анализа [3].

Результаты и их обсуждение

Численность населения. Исследование проведено в двадцати четырех сельских округах Жамбылского района (ЖР). ЖР является средне населенным регионом и занимает шестое место по численности в Алматинской области. По административному делению состоит из 24 сельских округов с общей численностью населения 120,0 тысяч человек. Следует отметить, что центрами сельских округов анализируемого нами района являются села с развитой инфраструктурой, которые, как правило, имеют наибольшую численность населения в составе округа (таблица 1).

В ЖР наблюдаются выраженные миграционные потоки (от 1378 до 3372 человек), что является закономерным согласно географическому расположению района вблизи от мегаполиса [4]. Как свидетельствуют данные переписи населения, размеры сельских округов Жамбылского района варьируют от 339 до 35095 человек (за 1999г варьируется от 621 до 26097 человек) [5].

По двум временным точкам переписи населения 1999 и 2008 гг. в численности сельских округов Узынагаша и Каргалы наблюдается увеличение населения до 29,24% и 16,73%, в Бериктаском, Сарытаукумском и Улкенском, Унгуртаском сельских округах численность населения уменьшилось от 3,98% до 0,28%. Незначительное увеличение обнаружено в остальных сельских округах, в среднем на 5% [4, 5].

Таблица 1- Численность населения в сельских популяциях Жамбылского района

Сельская популяция	N	Численность населения			
		1999 г.	%	2008 г.	%
1	2	3	4	5	6
Узынагашский сельский округ	1 433	26 097	24,64	35 095	29,24
Айдарлинский сельский округ	36	1 246	1,18	1 270	1,06
Аккайнарский сельский округ	123	1 916	1,81	2 058	1,71
Аксенгирский сельский округ	138	2 591	2,45	2 989	2,49
Актерекский сельский округ	237	3 362	3,17	3 445	2,87

Бериктасский сельский округ	123	2 225	2,10	2 470	2,06
Бозойский сельский округ	28	990	0,93	646	0,54
Дегересский сельский округ	209	3 317	3,13	3 717	3,10
Жамбылский сельский округ	234	4 160	3,93	4 273	3,56
Каракастекский сельский округ	269	3 562	3,36	4 017	3,35
Карасуский сельский округ	179	2 876	2,72	3 139	2,62
Самсинский сельский округ	137	2 727	2,58	3 146	2,62
Сарытаукумский сельский округ	20	621	0,59	339	0,28
Талапский сельский округ	131	2 415	2,28	2 640	2,20
Таранский сельский округ	71	1 642	1,55	2 111	1,76
Темиржолский сельский округ	234	4 960	4,68	5 536	4,61
Ульгилинский сельский округ	62	1 263	1,19	1 592	1,33
Улькенский поселковый округ	42	3106	2,93	1 623	1,35
Унгуртасский сельский округ	277	4 218	3,98	4 189	3,49
Каргалинский сельский округ	984	17 501	16,53	20 077	16,73
Шиенский сельский округ	135	2 683	2,53	2 782	2,32
Шолаккаргалинский сельский округ	219	4 941	4,67	5 000	4,17
ИТОГО:	5 759	105 895	100	120 024	100

Примечание: N – количество браков за 2005-2008гг.

Национальный состав. В популяции сельских округов проживают представители разных национальностей: греки, поляки, марийцы, армяне, дунгане, эстонцы и другие. Анализ национального состава в малочисленных этнических группах позволил выявить значительные изменения национального состава сельских популяций. Обнаружено незначительное увеличение удельного веса у лиц азербайджанской и корейской национальности от 1,01% и 0,11% (по данным 1999г.) до 1,06% и 0,13% (по данным 2008г), соответственно. Достоверное снижение доли удельного веса отмечено у русской, немецкой, украинской национальности от 0,11%, 1,26%, 0,65% до 10,93%, 0,72%, 0,39%, соответственно. За изученный период времени у лиц татарской, турецкой, уйгурской, чеченской и прочих национальностей выявлено незначительное снижение доли удельного веса за 2008 г. по сравнению за 1999г. (таблица 2).

Установлено, что в разрезе сельских популяциях Айдарлинского, Аксенгирского, Актерекского, Бериктасского, Бозойского, Дегереского, Жамбылского, Каракастекского, Карасусского, Матибулакского, Самсинского, Сарытаукумского, Талапского, Унгуртасского, Темиржолского, Ульгилинского, Шиенского сельских округах населения практически однонациональны (таблица 3). Жители коренной национальности (казахи) в данных популяциях колеблются от 91,0% до 99,2%, что очень характерно для сельских среднеазиатских популяций Узбекистана и Таджикистана, где коренное население составляет 96-98% [9].

Таблица 2 - Национальный состав сельского населения Жамбылского района

№	Национальный состав	1999 г.		2008 г.	
		n	%	n	%
1.	Казахи	79 362	74,94	94 988	79,14
2.	Русские	14 942	14,11	13 113	10,93
3.	Уйгуры	3 360	3,17	3 663	3,05
4.	Турки	2 107	2,00	2 188	1,82
5.	Азербайджанцы	1 069	1,01	1 267	1,06
6.	Корейцы	132	0,12	155	0,13
8.	Татары	852	0,80	801	0,67
9.	Немцы	1 333	1,26	867	0,72
10.	Украинцы	692	0,65	469	0,39
11.	Чеченцы	311	0,30	303	0,25
12.	Прочие	1 735	1,64	2210	1,84
	Всего	105 895	100,00	120 024	100,00

Промежуточное положение по национальному составу занимают популяции Узынагашского, Аккайнаргского, Мынбаевского, Таранского, Каргалинского, Шолаккаргалинского сельских округов. Удельный вес казахов исследованных популяции составили 74,2%, 85,7%, 71,2%, 84,0%, 66,9% и 73,2%, соответственно.

Наиболее этнически гетерогенный оказался Улькенский сельский округ. Жители коренной национальности (казахи) в Улькенском сельском округе составили 35,4%, а представители других национальностей в этой популяции составляют 64,6%.

В целом, отмечено в изученных популяциях возросла доля коренного населения (от 74,94% за 1999г. до 79,15% за 2008 г.), и уменьшились доли представителей других национальностей.

Средний возраст вступления в брак является одним из основных показателей демографических параметров, влияющих на воспроизводство населения, а значит и на воспроизводства генов человека в ходе смены поколений. Данные по возрасту мужчин и женщин, вступающих в брак в популяции сельских округов Жамбылского района за изученный период с 2005-2008 гг. представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Национальный состав и среднепопуляционный возраст вступления в брак мужчин и женщин в сельских округах Жамбылского района (2008 г.)

Сельские популяции	Национальный состав		Средний возраст		t	
	казахи	другие	Мужчины	Женщины		
	(%)	(%)	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	м	ж
Жамбылский район 2000 г. [2]	-	-	25,84±0,22	23,11±0,22	5,30	0,60
Узынагашский сельский округ	74,20	25,80	26,80 ± 0,15	23,55 ± 0,13	2,12	0,23
Айдарлинский сельский округ	94,10	5,90	28,22 ± 1,14	24,61 ± 0,74	0,84	1,47
Аккайнарский сельский округ	85,70	14,30	27,59 ± 0,59	24,23 ± 0,46	0,56	1,51
Аксенгирский сельский округ	91,90	8,10	26,27 ± 0,41	23,32 ± 0,43	2,24	0,43
Актерекский сельский округ	98,40	1,60	27,38 ± 0,37	22,89 ± 0,28	0,33	2,04
Бериктасский сельский округ	96,60	3,40	26,97 ± 0,51	23,06 ± 0,36	0,53	1,19
Бозойский сельский округ	92,50	7,50	29,39 ± 1,49	24,39 ± 0,65	1,43	1,33
Дегересский сельский округ	97,20	2,80	27,20 ± 0,44	23,40 ± 0,31	0,11	0,33
Жамбылский сельский округ	97,20	2,80	26,60 ± 0,32	23,04 ± 0,26	1,84	1,64
Каракастекский сельский округ	97,10	2,90	26,97 ± 0,32	23,39 ± 0,26	0,79	0,42
Карасуский сельский округ	91,00	9,00	27,39 ± 0,47	23,29 ± 0,37	0,28	0,57
Матибулакский сельский округ	95,20	4,80	27,03 ± 0,34	23,19 ± 0,27	0,59	1,08
Мынбаевский сельский округ	71,20	28,80	27,29 ± 0,51	23,86 ± 0,39	0,08	0,86
Самсинский сельский округ	98,80	1,20	27,41 ± 0,42	23,34 ± 0,33	0,36	0,48
Сарытаукумский сельский округ	97,40	2,60	26,60 ± 1,31	22,80 ± 0,95	0,49	0,74
Талапский сельский округ	99,20	0,80	26,70 ± 0,38	22,95 ± 0,31	1,35	1,68
Таранский сельский округ	84,00	16,00	28,46 ± 0,89	23,90 ± 0,63	1,34	0,61
Темиржолский сельский округ	93,70	6,30	26,52 ± 0,35	23,10 ± 0,29	1,92	1,31
Ульгилинский сельский округ	96,30	3,70	26,26 ± 0,60	23,37± 0,59	1,60	0,23
Улькенский поселковый округ	35,40	64,60	28,43 ± 1,45	24,90 ± 1,21	0,81	1,14
Унгуртасский сельский округ	92,10	7,90	27,11 ± 0,33	23,55 ± 0,27	0,39	0,14
Каргалинский сельский округ	66,90	33,10	27,32 ± 0,21	24,35 ± 0,18	0,27	3,88
Шиенский сельский округ	98,10	1,90	26,87 ± 0,37	22,89± 0,34	0,95	1,72
Шолаккаргалинский сельский округ	73,20	26,80	27,16 ± 0,40	22,95 ± 0,29	0,21	1,78
Итого	79,14	20,86	27,25 ± 0,15	23,51 ± 0,12		

Установлено, что среднепопуляционный возраст вступления в брак по сельским округам у мужчин оказался достоверно выше 27,25±0,15, чем в 2000 году (25,84±0,22) (t=5,30; P<0,001). Для женщин в динамике достоверных отличий среднего брачного возраста в среднем по сельским округам не обнаружено (23,51±0,12 по данным 2008 г. и 23,11±0,22 по данным 2000 г., t=0,60) [2].

Как видно из таблицы 3 наибольший средний брачный возраст отмечен в Айдарлинском, Бозойском, Таранском, Улькенском сельских округах для мужчин и для женщин в Айдарлинском,

Аккайнарском, Бозойском, Улькенском и Каргалинском сельских округах. Наиболее молодой возраст выявлен у женихов в Узынагашском, Аксенгирском Бериктаском, Жамбылском, Каракастекском, Сарытаукумском, Талапском, Темиржолском, Ульгилинском, Шиенском сельском округе и у невест в Актерекском, Сарытаукумском, Талапском, Шиенском, Шолаккаргалинском сельском округе.

Средний возраст вступления в брак в разрезе сельских округов ЖР сопоставим с аналогичным показателем для популяций Жылыойского, Жалагашского, Иртышского районов, для которых характерно достоверно более позднее заключение брака, для мужчин этот показатель составил $26,28 \pm 0,69$, $26,79 \pm 0,25$. Возраст вступления в брак у женщин в популяциях сельских округов ЖР ($23,51 \pm 0,12$) сопоставим с аналогичными данными для женщин Бескарагайского и Жылыойского районов ($23,14 \pm 0,29$ и $23,38 \pm 0,95$) [6].

Половозрастная структура, является важным демографическим показателем, который характеризует динамику численности популяции, ее эффективный размер и является отражением генетико-демографических процессов: рождаемости, смертности, следовательно, эффективности процесса колебания генных частот во времени [7, 8].

Структуры половозрастного распределения сельского населения популяции ЖР приведено в таблице 4.

В популяциях сельских округов ЖР для лиц в возрасте от 0 до 20 лет и для возрастной когорты 20-50 лет наблюдается небольшое преобладание мужского пола. В группе лиц старше 50 лет отмечается преобладание женщин, что соответствует данным литературы.

Таблица 4 - Половозрастная структура сельского населения в динамике (2000, 2008 гг.)

Пол		Возрастная структура сельской популяции, %			
		< 19 лет	20-49 лет	> 50 лет	Всего
Мужчины	2008 г. [3]	33,88	50,11	16,01	49,61
Женщины	2008 г. [3]	32,17	47,77	20,06	50,39
Оба пола	2008 г. [3]	33,02	48,93	18,05	100
Мужчины	2000 г. [2]	43,62	43,19	13,19	49,11
Женщины	2000 г. [2]	40,50	42,66	16,84	50,89
Оба пола	2000 г. [2]	42,03	42,92	15,05	100

По характеру половозрастной структуры населения популяция ЖР относится к растущему типу популяций, в которых дорепродуктивная и репродуктивная группы преобладают над пострепродуктивной. В популяции ЖР выявлена тенденция к снижению размера дорепродуктивной группы от 0 до 20 лет (33,02%) по сравнению с данными 2000г. (42,03%) и увеличению репродуктивной группы населения от 20 до 50 лет (48,93%) по сравнению с данными 2000г. (42,92%). Выявлена тенденция роста пострепродуктивной группы населения от 50 лет и старше от 15,05% по данным 2000г. до 18,05% по данным 2008г., чем можно прогнозировать всплеск мультифакториальной возрастозависимой патологии в этой возрастной группе в популяции ЖР.

Аналогические данные по половозрастной структуре населения получены в сельских популяциях Щербактинского, Аршалынского районов. Эти популяции относятся к растущему типу с простым воспроизводством населения [6].

В целом, половозрастная структура ЖР относится к растущему типу. В последние годы происходит внедрение процесса сознательного регулирования рождаемости, проявляющееся в планировании не только сроков рождения детей, но и количества детей, интервалов между рождениями и т.д., что особенно характерно для населения русской, украинской, белорусской, немецкой национальностей [9].

Подводя итог описанию основных демографических характеристик, следует отметить, что до настоящего времени демографическая структура казахских популяций характеризуется устойчивостью в своем развитии. Численность сельского населения в целом по Жамбылскому району выросла от 105,8 тысяч человек до 120,0 тысяч человек, имеет тенденцию к увеличению практически во всех округах ЖР. Национальный состав сельских округов ЖР разнообразен от практически однонационального в Айдарлинском, Аксенгирском, Актерекском, Бериктаском, Бозойском, Дегереском, Жамбылском, Каракастекском, Карасуском, Матибулакском, Самсинском, Сарытаукумском, Талапском, Унгуртаском, Темиржолском, Ульгилинском, Шиенском сельских округах до многонационального в Улькенском сельском округе. Наблюдается увеличение

среднепопуляционного возраста вступления в брак как у мужчин, так и у женщин, что свидетельствует о начале внедрения планирования семьи. Половозрастная структура сельских округов ЖР относится к популяциям растущего типа.

Литература

- 1 «Казахстан» Краткий энциклопедический словарь. Алматы китап, 2005., с. 22-23.
- 2 Абдуллаева А.М. Популяционно-генетическая структура и генетическая дифференциация сельских популяций Казахстана // Автореф. дисс. канд.мед.наук, Москва, 2004.
- 3 Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. ш.,1990. 352 с., Ельчинова Г.И. Методы обработки популяционно-генетических данных: структура брачных миграций //Медицинская генетика. - 2004.- Т.- 3. № 4.-С.185-192.
- 4 Административно-территориальное деление Алматинской области на 1 июля 2008 года // Статистический справочник, Департамент статистики по Алматинской области, Талдыкорган, 2008.
- 5 Численность и размещение населения в Республике Казахстан. Итоги переписи населения 1999 года Республики Казахстан // I, II том. Агентство РК по статистике. Алматы, 2000 г.
- 6 Святова Г.С., Березина Г.М., Ельчинова Г.И. Генетико-демографические процессы в сельских популяциях Казахстана и их генетическая дифференциация по митохондриальной ДНК // Монография, Алматы, 2008 г.
- 7 Jorde L.B. The genetic structure of subdivided human population // Current development in anthropological genetics.-New York, London:Plenum Press,1980.-P.139-208.
- 8 Ревазов А.А., Ахмина Н.И., Гинтер Е.К. и др. Медико-генетическое изучение населения Узбекистана. Сообщение II. Популяционно-генетическое описание четырех кишлаков Ургутского района // Генетика. – 1977.-Т.13. - № 11.- С. 2033.
- 9 Парадеева Г.М. Факторы подразделенности русских популяций Нечерноземья. // Автореф. дис. канд.биол.наук.- М., 1987.

Тұжырым

2005-2008 ж.ж. аралығындағы неке жазулары бойынша Жамбыл ауданының 24 ауыл округ тұрғындарында генетико-демографиялық зерттеу жұмыстары жүргізілді. Жамбыл аудан тұрғындарының арасында жергілікті қазақ халқы басым (79,14%) болды. Ауыл округтері бойынша орташа популяциялық некеге тұру жасы ерлер үшін $27,25 \pm 0,15$, әйелдер үшін $23,51 \pm 0,12$. Популяция жыныс құрылымы көрсеткіштері бойынша өсетін типке жататындығы анықталды.

Summary

The genetic demographic research of the population of 24 rural districts of Zhambylsky area according to the marriage records concluded about 2005-2008 the Population of rural districts of Zhambylsky area is carried out characterized by considerable prevalence of indigenous population - Kazakhs (on the average on area of 79,14 %). Average of population age of the introduction into marriage on rural districts for men has made $27,25 \pm 0,15$ and varied from $26,26 \pm 0,60$ to $29,39 \pm 1,49$, for women $23,51 \pm 0,12$ and varied from $22,80 \pm 0,95$ to $24,90 \pm 1,21$. The sex and age composition of the population concerns growing type of the population.

УДК 575.8: 575.16: 575.224

Кирикович С.С., Левитес Е.В.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ РАСТЕНИЙ

(Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия)

Рассмотрена существующая у высших растений эпигенетическая изменчивость и влияющие на нее внешние и внутренние факторы. Обсуждается роль эпигенетической изменчивости в эволюционном процессе.

Дарвиновская концепция видообразования и вслед за ней синтетическая теория рассматривают в качестве основы эволюции живых организмов возникновение и постепенное накопление ими наследуемых мельчайших изменений (мутаций), приводящих, в конечном счете, к появлению нового

вида в недрах старого. Однако эти теории не учитывают целый ряд крупных (сальтаторных) изменений, приводящих к эволюционным преобразованиям. Это относится к геномным мутациям, обусловленным изменением числа геномов в клетке, и к системным мутациям, представляющим собой результат изменения пространственного расположения хромосом в ядре клетки. Возникающие при этих типах мутаций новые формы резко отличаются от предковых целым комплексом признаков [1]. В настоящее время пристальное внимание исследователей приковано к изучению необычайно широкого класса мало исследованной ранее изменчивости, называемой эпигенетической. Эпигенетическими называют изменения активности и экспрессии генов, возникающие в процессе индивидуального развития организма и не связанные с нарушением нуклеотидной последовательности ДНК, но приводящие к сохранению активного или неактивного состояния генов в ряду клеточных и половых поколений [2]. Сохранение состояния генов в ряду клеточных поколений является основой дифференцировки тканей в онтогенезе. Эволюционная значимость эпигенетической изменчивости определяется лежащими в ее основе процессами, частотой возникновения изменений, стойкостью в ряду поколений и связью с процессами размножения. Несмотря на большое число работ, посвященных молекулярным исследованиям механизма эпигенетических изменений, полная картина происходящих при этом событий неясна. Поэтому в изучении эпигенетической изменчивости большое значение имеет не только выяснение ее молекулярных механизмов, но и выявление факторов, влияющих на эту изменчивость. Эти факторы, действующие в онтогенезе, разделяются на внешние (температура, освещенность, влажность, питание, эпимутагены и др.) и на внутренние (особенности генома, зависящие от генотипа и плоидности материнского и отцовского растений, а также от стадии развития и способа репродукции, с помощью которого данное растение было получено).

Внешние факторы, вызывающие эпигенетическую изменчивость. Наглядным примером эпигенетической изменчивости, которую можно рассматривать как эволюционно закрепившийся запасной вариант онтогенеза в новых условиях среды, является изменчивость, наблюдаемая у растений, когда одна его часть находится в одних условиях, а другая – в резко противоположных. Известно, что у картофеля на надземной части стебля, если ее полностью лишить света, могут образовываться клубни, причем такие же, как и на подземной части. Также хорошо известно, что у растений стрелолиста и водяного лютика подводные части резко отличаются от надводных; те листья, которые находятся под водой, узкие, а те, что над водой, широкие с большей фотосинтезирующей поверхностью.

К внешним факторам, вызывающим эпигенетические изменения, можно отнести воздействие эпимутагенами, т. е. веществами, которые не меняют нуклеотидной последовательности генов, но с высокой частотой изменяют состояние генов. Возникающие при этом изменения называют эпимутациями. Получение эпимутаций позволяет изучать механизм их возникновения и моделировать процессы, которые могут иметь место в эволюции растений. В качестве эпимутагенов выступают: 5-азациитидин, являющийся ингибитором метилирования ДНК [3], колхицин, вызывающий удвоение генома [4], никотиновая кислота, стимулирующая обменные процессы [5], Тритон X-100, вызывающий нарушение взаимодействия белков с ядерной мембраной [6-9]. Эпигенетические состояния, возникающие после воздействия эпимутагенами, могут сохраняться в течение многих поколений. Известно, например, что увеличение размеров колоса, узлов стебля, числа зерен в колосе, вызванное воздействием никотиновой кислоты на прорастающие семена пшеницы, сохраняются уже в течение 57 поколений [5]. В недавних исследованиях было обнаружено, что Тритон X-100, используемый обычно как неполярный детергент, также может вызывать наследуемые изменения морфологических признаков у пшеницы и сахарной свеклы [6-9].

Изменение уровня плоидности в естественных условиях или под действием эпимутагена колхицина приводит к изменению многих морфологических, физиологических и репродуктивных признаков растения, которые сохраняются в течение многих поколений. Изменение уровня плоидности, сопровождающееся изменением большого числа признаков, представляет собой яркое проявление эпигенетической изменчивости, поскольку при этом нуклеотидные последовательности не меняются, а меняется лишь число хромосом и, соответственно, генов в ядре клетки [4].

Внутренние факторы, вызывающие эпигенетическую изменчивость. Сопровождающее полиплоидию изменение дозы генов является одним из важных внутренних факторов, оказывающих влияние на эпигенетическую изменчивость. На важную роль полиплоидии в эволюционном процессе указывает тот факт, что до 70 % видов покрытосеменных растений – полиплоиды. Обусловленное полиплоидией увеличение дозы генов приводит в действие компенсаторные механизмы, проявляющиеся в эпигенетической инактивации многих генов [4]. Было показано, например, что

перевод растения кукурузы с диплоидного уровня на тетраплоидный изменяет относительную активность ферментных локусов, контролирующих алкогольдегидрогеназу (ADH), а также изменяет динамику их экспрессии в онтогенезе [10]. Этот пример показывает, что полиплоидия изменяет межгенные взаимодействия.

Такой важный признак как наличие реакции на яровизацию можно рассматривать как эволюционно закрепившийся эпигенетический механизм. Это продемонстрировано в исследованиях на сахарной свекле, где выявлены различия в экспрессии аллелей маркерных ферментных локусов до и после яровизации. Эти различия заключались в стойкой репрессии одного из аллелей гетерозиготного ферментного локуса в течение продолжительного периода после яровизации и его активации в период цветения [11]. Сохранение активного или неактивного состояния аллельных генов в ряду клеточных поколений до или после яровизации указывает на эпигенетическую природу изменений не только ферментных генов, но и большого числа генов, детерминирующих комплекс морфологических и физиологических признаков, определяющих статус растения после яровизации. Это подтвердилось также и в экспериментах с повторной яровизацией [12]. Было показано, что повторная яровизация может приводить к изменению эпигенетического состояния клеток генеративных и соматических тканей, что в свою очередь приводит как к появлению клеток, способных к эмбриональному развитию путем агамоспермии, так и к изменению экспрессии аллелей маркерного ферментного локуса *Adh1*, контролирующего ADH.

Существует взаимное влияние способа размножения на эпигенетическую изменчивость и, наоборот, изменчивости на размножение. Если в потомствах, образующихся гамоспермным (половым) путем, эпигенетическая изменчивость по отдельным локусам может проявляться с частотой порядка единиц процентов, то в агамоспермных потомствах она наблюдается сразу по многим локусам с частотой до 50 % на каждый «эпимутабельный» локус [13, 14]. С другой стороны, замолкание генов, важных для жизнеспособности растения или его гамет, может резко менять вклад растения в следующее поколение, что может сказываться на эволюционном процессе [15]. Несколько меньшая частота эпигенетической изменчивости наблюдается при вегетативном размножении. Впервые изменчивость у таких растений отмечал Дарвин, назвав ее «почковой вариацией (bud variation)», которая, по его словам, «встречается далеко не редко, хотя и не так часто, как при половом размножении» (цит. по [16]).

Заключение

Рассматривая эволюционное значение эпигенетической изменчивости можно отметить следующее. Если обычные мутационные события происходят с частотой порядка 10^{-6} - 10^{-5} , то эпигенетические изменения происходят с частотой нескольких процентов. Это обуславливает высокую скорость эволюционного процесса и объясняет стоящую перед палеоботаникой проблему происхождения цветковых растений. По данным палеоботаники цветковые растения внезапно появились в меловом периоде без каких-либо промежуточных форм [17]. Это объясняется возможностью одновременных эпигенетических изменений многих признаков и фенотипа растения в целом, происходящих за 2-3 поколения, что в геологических масштабах представляется мгновением. Таким образом, эпигенетическая изменчивость представляет собой не только основной механизм регуляции экспрессии генов в онтогенезе, но также и мощный способ изменения и эволюции генома, а многочисленные факты эпигенетической изменчивости подтверждают теорию Ламарка о наследовании приобретенных признаков.

Работа финансировалась грантом № 99 по интеграционному проекту СО РАН 2009-2011 гг. «Индукция эпигенетических изменений как новый эффективный метод создания исходных селекционных форм растений».

Литература

- 1 Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосиб. Ун-та, 1993. 111 с.
- 2 Голубовский М.Д. Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Борея Арт, 2000. 262 с.
- 3 Jones P.A. Altering gene expression with 5-azacytidine // *Cell*. 1985. V. 40. P. 485–486.
- 4 Matzke M.A., Sheid O.M., Matzke A.J.M. Rapid structural and epigenetic changes in polyploidy and aneuploid genomes // *BioEssays*. 1999. V. 21. P. 761–767.
- 5 Богданова Е.Д. Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой у *Triticum aestivum* L. // *Генетика*. 2003. Т. 39. № 9. С. 1221–1227.
- 6 Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Левитес Е.В. Способ индукции эпигенетической изменчивости у мягкой пшеницы. Патент на изобретение № 2322801. Опубликовано. Бюл. № 12. 27.04.2008.

- 7 Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Левитес Е.В. Индукция тритоном X-100 наследуемых изменений морфологических признаков у *Triticum aestivum* L. // Генетика. 2000. Т. 45. № 4. С. 564–568.
- 8 Кирикович С.С., Левитес Е.В. Изменение динамики прорастания семян и проявления стерильности пыльцы у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) под влиянием эпимутагена «Тритон X-100» // матер. VII Межрегиональной конференции молодых ученых и специалистов аграрных вузов Сибирского федерального округа "Инновационный потенциал молодых ученых в развитии агропромышленного комплекса Сибири", 3-5 июня 2009 г. Новосибирск, 2009. С. 48–52.
- 9 Kirikovich S.S., Levites E.V. Effect of epimutagene Triton X-100 on morphological traits in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) // Sugar Tech. 2009. V. 11. № 3. P. 66–69.
- 10 Левитес Е.В., Новожилова Т.И. Изучение активности и изоферментных спектров алкогольдегидрогеназы в полиплоидном ряду кукурузы (*Zea mays* L.) // Генетика. 1978. Т. 14. № 4. С. 581–589.
- 11 Левитес Е.В., Горенштейн Н.М., Денисова Ф.Ш., Тарасова Р.С. Изоферменты как маркеры нестабильности генома у сахарной свеклы // Генетика. 1991. Т. 27. № 11. С. 1937–1954.
- 12 Левитес Е.В., Шахова И.С., Кирикович С.С. Повторный цикл яровизации и цветения как фактор эпигенетической изменчивости у сахарной свеклы. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 9 с.
- 13 Levites E.V., Kirikovich S.S., Denisova F.Sh. Expression of enzyme genes in agamosperous progenies of reciprocal hybrids of sugar beet // Sugar Tech. 2001. V. 3. № 4. P. 160–165.
- 14 Levites E.V., Kirikovich S.S. Epigenetic variability of unlinked enzyme genes in agamosperous progeny of sugar beet // Sugar Tech. 2003. V. 5. № 1&2. P. 57–59.
- 15 Левитес Е.В., Малецкий С.И. Авто- и эписегрегация по репродуктивным признакам в агамоспермных потомствах свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. 1999. Т. 35. № 7. С. 939–948.
- 16 Тимирязев К.А. Чарльз Дарвин и полувекковые итоги дарвинизма // Сочинения. Т. 7. М.: Сельхозгиз, 1939. С. 211–240.
- 17 Соболев Д.Н. Начала исторической биогенетики. Симферополь: Гос. Изд-во Украины, 1924. 204 с.

Тұжырым

Жоғары сатыдағы өсімдіктерде бар эпигенетикалық өзгергіштік және оған әсер ететін ішкі және сыртқы факторлар қарастырылған. Эволюциялық процестегі эпигенетикалық өзгергіштіктің рөлі талқыланады.

Summary

Examples of epigenetic variability in higher plants and influencing on it external and internal factors are presented. Role of epigenetic variability in evolution processes is discussed.

УДК: 575.12 : 575.16 : 577.15 : 633.63

Левитес Е.В.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЯ ХРОМОСОМ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ СПОСОБ КОДИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ У РАСТЕНИЙ (ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ)

(Институт цитологии и генетики СО РАН)

Представлена гипотеза о роли дифференциальной эндоредупликации хромосом в кодировании наследственной информации у растений, созданная на основании полученных экспериментальных и имеющихся в литературе данных

В середине двадцатого века были выявлены примеры изменчивости, возникающей при половом размножении и не укладывающейся в рамки законов менделевской генетики: парамутации [1], мобильные элементы [2]. Кроме того, в это же время стало все больше накапливаться данных о том, что у большого числа видов растений и у некоторых видов животных существуют способы размножения, которые не относятся к половым и при которых возникает изменчивость, не соответствующая законам менделевской генетики.

У растений способы семенного размножения, при которых образование потомства происходит только за счет одного родителя (за счет материнского растения), называют агамоспермными [3].

Развитие диплоидного зародыша без участия опылителя возможно лишь в том случае, когда в эмбриогенез вступает диплоидная яйцеклетка (при мейотической агамоспермии), либо диплоидная

соматическая клетка нуцеллуса, интегументов или даже зародышевого мешка, образовавшегося без мейоза (при митотической агамоспермии). Образование семян в таком случае можно назвать семенным клонированием, и теоретически такие потомства должны быть однородны. Однако в таких потомствах при использовании в качестве генетических маркеров изоферментов был выявлен полиморфизм [4]. Нами была предпринята попытка выявить различия между митотической и мейотической агамоспермией по соотношению фенотипических классов в агамоспермных потомствах, полученных от обработанных колхицином пыльцестерильных растений сахарной свеклы [5]. При сравнении изменчивости маркерного фермента (алкогольдегидрогеназы) в агамоспермных потомствах контрольных и опытных растений было обнаружено, что воздействие колхицином на материнское растение влияет на многие морфофизиологические признаки его потомства. Однако было установлено, что в группе измененных под действием колхицина растений не происходит увеличение доли потомств, в которых бы наблюдалось соотношение фенотипических классов, свидетельствующее о происхождении зародышей из диплоидных яйцеклеток. Это позволило предположить, что основная часть полученных в данном эксперименте потомств образовалась путем митотической агамоспермии, и что важнейшим фактором, определяющим переход соматических клеток данных растений к эмбриогенезу, является наличие не полиплоидных клеток, а клеток, содержащих эндоредуплицированные хромосомы [5]. Эта гипотеза подтверждалась существованием диплоидных растений сахарной свеклы, склонных к агамоспермии и обладающих высоким содержанием ДНК в ядрах клеток [6].

Представляло интерес также то, что в полученных агамоспермным путем растениях наблюдались различия в изменчивости сцепленных ферментных локусов *Adh1*, контролирующего алкогольдегидрогеназу (ADH1), и *Idh3*, контролирующего изоцитратдегидрогеназу (IDH3), расположенных друг от друга на расстоянии 17 сМ [7].

Необходимо заметить, что практически все полученные агамоспермным путем растения, классифицируемые как фенотипически измененные, т.е. имеющие не исходный гетерозиготный фенотип, а фенотип, сходный с гомозиготным, не несут аллелей, активность которых была бы равна нулю. Эти растения являются гомозиготами по аллелю, сохранившему свою экспрессию. Предположение о том, что возникшее сходство первоначально различных, присутствовавших у материнских растений аллельных вариантов фермента происходит вследствие произошедшей в структуре гена замены единичных нуклеотидов и соответствующей замены аминокислот в первичной структуре белка, отвергается в силу очень малой вероятности этого события. Это возражение тем более справедливо в отношении изоферментов алкогольдегидрогеназы ADH1, поскольку аллели этого локуса различаются сразу по двум нуклеотидам, находящимся друг от друга на расстоянии 84 нуклеотида [8]. Если допустить, что агамоспермия приводит к определенным замещениям в локусе *Adh1*, то необходимо предположить, что эти изменения затрагивают область гена, включающую в себя не менее 86 нуклеотидных пар. Тогда возникает другой вопрос: почему изменяется только часть гена? Может быть заменяется целый ген?

Представляется перспективным рассмотреть эти данные с позиции гипотезы о том, что в эмбриогенез путем митотической агамоспермии вступают клетки семязачатки с высоким уровнем полипloidии [5]. Полипloidия довольно хорошо описана у многих видов растений [9-11]. Полипloidия часто наблюдается в генеративных органах растений, особенно в клетках семязачатков и тапетума пыльника. Для дальнейших рассуждений важно также то, что хромосомы эукариот имеют много независимых точек начала редупликации [12].

Учитывая все изложенные факты можно предложить следующую модель для объяснения полученных результатов. Можно представить, что рассматриваемое здесь агамоспермное потомство, в котором выявляются только гетерозиготы по локусу *Adh1* и два фенотипических класса по локусу *Idh3* (*FF* и *FS*), получено от материнского растения, у которого в локусе *Adh1* оба аллеля были представлены только по одной дозе, а в локусе *Idh3* аллель *Idh3-F* был представлен в три раза большим числом копий. У этого растения генотип соматических клеток, способных перейти к эмбриональному развитию, условно можно обозначить как *FS* по локусу *Adh1*, и *FFFS* по локусу *Idh3*. Но клетка, вступающая в эмбриогенез, может содержать только две хроматиды. Это является причиной возникновения комбинаторного процесса, благодаря которому во вступающей в эмбриогенез клетке остается лишь пара хроматид (пара выступающих как единое целое комбинаторных единиц). Комбинаторный процесс заключается в выборе случайной пары из четырех имеющихся копий хроматид, несущих аллели локуса *Idh3*. Клетка, вступающая в эмбриогенез, может быть обозначена как апозигота (APZ). Равновероятная комбинация из четырех элементов по два приводит к образованию двух возможных генотипических классов в соотношении 1*FF* : 1*FS*.

Попарная комбинация хроматид не означает, что они достигают одного и того же полюса при делении клетки. В данном случае это может определяться тем, что эти две хроматиды прикрепляются к фактору, представляющему собой либо ядерную мембрану, либо ядерный матрикс. Единообразие данного потомства по гетерозиготному спектру ADH1 обусловлено в данном случае отсутствием комбинаторного процесса, поскольку каждый из аллелей этого локуса представлен лишь одной дозой.

Вывод о прикреплении хромосом эукариот к ядерной мембране впервые был сделан А.Н. Мосоловым в 1972 году [13].

Прикрепленные к ядерной мембране или к ядерному матриксу хроматиды определяют генотип апозиготы (APZ). Другие две хроматиды, не прикрепившиеся к этому фактору, постепенно теряются из клеток, претерпевающих деление. Обозначив хроматиды, прикрепленные к ядерной мембране или к ядерному матриксу, как $\underline{F}$ или $\underline{S}$, процессы можно схематически представить следующим образом:

$FFFS \rightarrow \underline{FF}$ (генотип APZ), а F и S теряются

$FFFS \rightarrow \underline{FS}$ (генотип APZ), а $2F$ теряются

В силу того, что хромосомы эукариот имеют множество независимых точек начала редупликации, потеря избыточных копий хроматид может происходить независимо на отдельных участках хромосом.

Вполне вероятно, что стимулом к эмбриогенезу и к тому, чтобы из клетки стали элиминироваться избыточные копии отдельных участков хроматид, может являться возрастание числа хроматид при эндоредупликации. Возникающее при эндоредупликации увеличение количества ДНК в клетке аналогично тому, что происходит при слиянии гамет. Комбинаторный процесс, предваряющий собой элиминацию участков хроматид, определяет генотип APZ и, соответственно, набор теряющихся на начальных стадиях развития зародыша избыточных копий этих участков.

Предложенная здесь гипотеза подтверждается данными, полученными при изучении зигот ячменя (*Hordeum disticum* cv. Nauchen) на начальных стадиях развития зародыша. Содержание ДНК в ядрах зигот *H. disticum* было 16C, но оно постепенно снижалось в ядрах клеток проэмбрио до 2C [14]. Тот факт, что может происходить потеря генетического материала в течение первых делений эмбриогенеза, хорошо продемонстрировано на *Cyclopoida* и *Ciliatae* [15]. В наших экспериментах доказательством такой потери является обнаружение нулевых фенотипов по ферментам в агамоспермных потомствах.

Возможность неравной редупликации гомологичных хромосом была показана ранее на бобах [16]. На возможность такой асимметрии в исследованных нами растениях указывает тот факт, что в некоторых семенных потомствах, полученных агамоспермным путем, выявлялось только два фенотипических класса в равных соотношениях. Существование агамоспермных потомств, содержащих два фенотипических класса, представляет собой интерес, поскольку указывает на наличие специфического механизма, лежащего в основе этого процесса.

Данные, полученные на *Phaseolus cocineus* [16], и выявленные нами соотношения фенотипических классов в агамоспермных потомствах сахарной свеклы позволяют говорить об еще одном пути кодирования наследственной информации у растений, основанном на эндоредупликации.

В предыдущих статьях было предложено рассматривать генетическое кодирование, основанное на эндоредупликации, как кодирование во втором измерении (2D), а кодирование, записанное последовательностью нуклеотидов, рассматривать как кодирование в первом измерении (1D) [17-19]. В этих статьях было предложено также рассматривать специфическое расположение хромосом в клеточном ядре как кодирование в 3D измерении, и также было сделано предположение о существовании временного кодирования наследственной информации у растений.

Легко видеть, что генетическое кодирование в различных измерениях в разной степени подвержено влиянию внешних и внутренних факторов. Изменения нуклеотидной последовательности в результате мутаций, представляющие собой замещения нуклеотидов, происходят очень редко, с частотой $10^{-5} - 10^{-6}$, а изменения в агамоспермных потомствах происходят с частотой десятков процентов. Зависимость соотношений фенотипов в агамоспермных потомствах от воздействия колхицина или от вклада родителей материнского растения [5, 20] свидетельствует о том, что генетическое кодирование во втором измерении (2D) зависит от внутренних и внешних условий. Можно полагать, что кодирование в третьем (3D) и во временном измерении также зависит от внутренних и внешних факторов, а также и от времени.

Учитывая влияние колхицина на соотношение фенотипов в агамоспермном потомстве и учитывая зависимость этих соотношений от происхождения аллелей маркерного гена, учитывая также увеличение содержания ДНК при возникновении под действием внешних факторов стойких

наследуемых изменений [21], а также тот факт, что репликация в целом зависит от питания, можно говорить о том, что дифференциальную эндоредупликацию хромосом можно рассматривать как способ записи наследственной информации о приобретенных признаках.

Литература

- 1 Brink R.A. Paramutation and chromosome organization // *Q. Rev. Biol.* 1960. V. 35. P. 120–137.
- 2 McClintock B. Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symp // Quant. Biol.* 1951. V. 16. P. 13–47.
- 3 Gustafsson A. Apomixis in higher plants // *Lunds. Univ. Arsskz. N.S. Sect.2.* 1946–1947. V. 42. № 3. P. 1–67; V. 43. № 2. P. 71–179; V. 43. № 12. P. 184–370.
- 4 Левитес Е.В., Шкутник Т., Овечкина О.Н., Малецкий С.И. Псевдосегрегация в агамоспермных потомствах пыльцестерильных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // *Докл. РАН.* 1998. Т. 362. № 3. С. 430–432.
- 5 Levites E.V., Denisova F.Sh., Kirikovich S.S., Judanova S.S. (Maletskaya S.S.) Ratios of phenotypes at the *Adh1* locus in the apozygotic offspring in sugarbeet (*C₁* generation) // *Sugar Tech.* 2000. V. 2. № 4. P. 26–30.
- 6 Maletskaya E.I., Maletskaya S.S. The nuclear DNA mass variability in embryo root cells of sugarbeet // *Sugar Tech.* 1999. V. 1. № 1/2. P. 30–36.
- 7 Левитес Е.В., Кудашева Т.Ю., Висклер Л.Н. Изучение групп синтенных генов у сахарной свеклы. Новосибирск: ИЦиГ СО АН, 1988. 24 с.
- 8 Виниченко Н.А. и др. Молекулярные различия аллелей *Adh1-F* и *Adh1-S* у сахарной свеклы *Beta vulgaris* L. // *Генетика.* 2004. Т. 40. № 2. С.232–238.
- 9 Курьянов Г.И., Поляков В.Ю., Ченцов Ю.С. Биохимический подход к проблеме полиемности хромосом растений // *Докл. АН СССР.* 1974. Т. 218. № 2. С. 485–488.
- 10 Nagl W. Nuclear organization // *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1976a. V. 27. P. 39–69.
- 11 Carvalho G. Plant polytene chromosomes // *Genet. Mol. Biol.* 2000. V. 23. V. 4. P. 1043–1050.
- 12 Van't Hof J. Functional chromosomal structure: the replicon // *DNA replication in plants* / Ed: J.A. Bryant and V.L. Dunham / Boca Raton, FL, USA: CRC Press., 1988. P. 1–15.
- 13 Мосолов А.Н. Новый подход к решению проблемы пространственного расположения хромосом в интерфазном ядре (полярная модель интерфазного ядра) // *Цитология.* 1972. Т. 14. № 5. С. 542–552.
- 14 Mericle L.W., Mericle R.P. Nuclear DNA complement in young proembryos of barley // *Mutat. Res.* 1970. V. 10. № 10. P. 508–518.
- 15 Ammermann D. Morphology and development of the macronuclei of the ciliates *Stylonychia mytilus* and *Euplotes aediculatus* // *Chromosoma.* 1971. V. 33. P. 209–238.
- 16 Cionini P.G., Cavallini A., Corsi R., Fogli M. Comparison of homologous polytene chromosome in *Phaseolus cocineus* embryo suspensor cells: morphological, autoradiographic and -cytophotometric analyses // *Chromosoma.* 1982. V. 86. P. 383–396.
- 17 Levites E.V. Theoretical and practical aspects of studies in epigenetic variability in sugarbeet // *Sugar Tech.* 2003. V. 5. № 4. P. 209–211.
- 18 Levites E.V. Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants // *Sugar Tech.* 2005. V. 7. № 2/3. P. 67–70.
- 19 Levites E.V. Marker enzyme phenotype ratios in agamospermous sugarbeet progenies as a demonstration of multidimensional encoding of inherited information in plants // on-line: <http://arxiv.org/abs/q-bio/0701027>
- 20 Levites, E.V., Kirikovich, S.S., and Denisova, F.Sh. Expression of enzyme genes in agamospermous progenies of reciprocal hybrids of sugar beet // *Sugar Tech.* 2001. V.3. N.4. P.160-165.
- 21 Богданова Е.Д. Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой у *Triticum aestivum* L. // *Генетика.* 2003. Т. 39. № 9. С. 1221–1227.

Тұжырым

Тәжірибе нәтижесінде алынған және әдебиеттерде кездесетін мәліметтер негізінде жасалған өсімдіктердегі тұқымқуалаушылық ақпаратты кодтауда хромосоманың дифференциалды эндоредупликациясының рөлі жөнінде гипотеза ұсынылған.

Summary

Hypothesis about role of differential chromosomal endoreduplication in encoding of inherited information in plants is presented. This hypothesis was originated on the base of experimental and literary data.

Тайпакова С.М.¹, Станбекова Г.², Бисенбаев А.Қ.¹, Ысқақов Б.Қ.²
***Lentinula edodes* САҢЫРАУҚҰЛАҒЫНЫҢ ТЕРМОТҰРАҚТЫ ЦЕЛЛОБИОГИДРОЛАЗА**
ГЕНДЕРІН СИПАТТАУ ЖӘНЕ АМПЛИФИКАЦИЯЛАУ

(¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

Биология және биотехнология мәселелері ғылыми зерттеу институты

² ҚР БҒМ ҒК М.Ә.Айтқожин атындағы молекулалық биология және биохимия институты)

cel7A және cel6B гендерінің нуклеотидтік қатарының компьютерлік талдануы нәтижесінде олардың трансляция өнімдері ферменттердің 7A және 6B гликозил-гидролаза тұқымдасына жататындығы дәлелденді. Lentinula edodes саңырауқұлағының мицелиінен бөлініп алынған нуклеин қышқылы препаратынан кері транскрипция реакциясы және потимеразды тізбектік реакция көмегімен cel7A және cel6B гендерінің кДНК-сы амплификацияланды.

Целлюлозаның ферментативтік гидролизі нәтижесінде түзілген глюкозаның этанолға ашуы немесе микробтық синтездің басқа да өнімдерін алуда қолданылуы өсімдік биомассасының биоконверсиялануының негізін құрайды. Ағаш тектес өсімдіктер сонымен қатар, ауылшаруашылығындағы, ағаш өңдеу өндірісіндегі қалдықтар, тіпті тұрмыстық қатты қалдықтар әртүрлі химиялық өнімдер және био отын алу үшін арзан әрі қайта қалпына келетін шикізат көзі ретінде үлкен потенциалға ие. Осы шикізаттарды өндеудің құны және целлюлазалық кешеннің гидролитикалық әсерінің эффективтілігі лигноцеллюлозалық биомассаның биоконверсиялану процессінің рентабельділігіне әсер ететін негізгі факторлар болып табылады [1].

Целлюлоза – өзара β -1,4-D-глюкозидтік байланыстармен байланысқан глюкозадан тұратын ерімейтін полисахарид. Целлюлозаның ферменттік деструкциялануы жеке ферменттердің әсерінен емес целлюлазалық кешен атауымен белгілі эндо- β -1,4-глюканаза, экзо- β -1,4-глюканаза (целлобиогидролаза; CBH) және β -глюкозидаза ферменттер тобы әсерінен жүреді [2]. Бұл ферменттерге целлюлозаның байланыстарын толығымен ыдыратуға мүмкіндік беретін синергизмді әсер ету қасиеті тән [3]. Сонымен қатар олардың жеке қасиеттері және целлюлазалық кешендегі өзара әсерлесуі целлюлозалы субстраттардың гидролиздену процессіндегі кешеннің эффективтілігін анықтайды.

Әртүрлі типті целлобиогидролазалар (CBH) саны анықталған, алайда саңырауқұлақтарда термотұрақты бірегей түрлері ғана сипатталған. Бірнеше зерттеу жұмыстарының нәтижесі бойынша *Lentinula edodes* саңырауқұлағы қоректенуі үшін лигноцеллюлолитикалық субстраттарды ыдырата алатын термотұрақты целлюлолитикалық ферменттердің көзі [4].

Жұмыстың мақсаты *Lentinula edodes* саңырауқұлағының целлобиогидролаза гендерін сипаттау және амплификациялау болып табылады.

Зерзаттары және әдістері

Нуклеин қышқылы препараттарын бөліп алу үшін материал ретінде *Lentinula edodes* саңырауқұлағының мицелиін қолдандық. Целлобиогидролаза гендерінің нуклеотидтік ретінің компьютерлік талдануы “MicroGenie”, «GeneRunner», «VNTI Viewer», «NetGene2» компьютерлік бағдарламалар көмегімен іске асырылды. Белоктардың аминқышқылдық реті де осы бағдарламалар бойынша талданды. Кері транскрипция реакциясы РНК-тәуелді ДНК-полимераза (M-MuLV-RT, фирмы «Fermentas») көмегімен және Полимераздық тізбектік реакция (ПТР) стандартты әдісі көмегімен орындалды. Целлобиогидролаза гені ендірілген генетикалық конструкция құруда гендік инженерия әдістері қолданылды.

Нәтижелер және оларды талдау

Біз шамамен 516 аминқышқылынан тұратын, молекулалық массасы 53,5 килодальтон (кДа) және изоэлектрлік нүктесі (ИЭН) орташа есеппен 4,1 болатын целлобиогидролаза I белогын кодтайтын 1571 ж.н. қамтитын (номер AF411250 GenBank) *cel7A* генінің мРНҚ-сының нуклеотидтік ретін компьютерлік талдадық. Компьютерлік талдау нәтижелері бойынша бұл фермент N-соңында, Gly18 және Gln19 аралығында кесілетін, сигналдық пептидінің болуына байланысты саңырауқұлақтар клеткасынан секрециялануы керек. *cel7A* генімен кодталатын белокта (CEL7A) ұзындығы 430 амин қышқылы қалдығынан тұратын (20-дан 449-ға дейінгі) каталиттік доменінің болуы, оны гликозил-гидролазаның 7-тұқымдасына жатқызуға мүмкіндік береді.

Сонымен қатар, шамамен 444 аминқышқылынан тұратын, молекулалық массасы 46,4 килодальтон (кДа) және изоэлектрлік нүктесі (ИЭН) орташа есеппен 4,1 болатын гликозил-гидролаза ферментін кодтайтын 1335 ж.н. қамтитын (номер AF411251 GenBank) *cel6B* генінің мРНҚ-сының нуклеотидтік ретін компьютерлік талдадық. Бұл белоктың (CEL6B) 103-тен 410-ға дейінгі амин

қышқылы қалдығынан тұратын каталиттік доменінің болуы, оны гликозил-гидролазаның 6-тұқымдасына классификациялауға мүмкіндік береді..

1	M FRTAALLSF AYLAVVYG*QQ AGTSTAETHP PLTWEQCTSG	40
41	GSCTTQSSSV VLDSNWRWTH VVGGYTNCYT GNEWNTTVCP	80
81	DGTTCAANCA LDGADYEGTY GISTSGNALT LKFVTASAQ	120
121	NVGSRVYLMA PGSETEYQMF NPLNQEFTHD VDVSAALPCGL	160
161	NGALYFSEMD ADGGLSEYPT NKAGAKYGTG YCDSQCPRDI	200
201	KFIEGKANVE GWTPSSTSPN AGTGGTGICC NEMDIWEANS	240
241	ISEALTPHPC TAQGGTACTG DSCSSPNSTA GICDQAGCDF	280
281	NSFRMGDTSF YGPGLTVDTT SKITVVTQFI TSDNTTGGDL	320
321	TAIRRIYVQN GQVIQNSMSN IAGVTPTNEI TTDFCDQQKT	360
361	AFGDTNTFSE KGGLTGMGAA FSRGMVLVLS IWDDDAEML	400
401	LDSTYPVGKT GPAAARGTCA TTSGQPDQVE TQSPNAQVVF	440
441	SNIKFGAIGS TFSSTGTGTG TGTGTGTGTG TTTSSAPAA	480
481	QTKYGCQCGQ GWTGATVCAS GSTCTSSGPY YSQCL#	515

Бірінші аминқышқылы - метионин (**M**) қанық шрифтпен көрсетілсе, сигналдық пептидтің кесілу орны жұлдызшамен (*) көрсетілген. # - белгісімен стоп-кодон орны белгіленген.

Сурет 1- CEL7A целлобиогидролазаның аминқышқылдық реті

Компьютерлік талдау нәтижелері бойынша бұл фермент те CEL7A секілді N-соңында, Gly20 және Gln21 амин қышқылы қалдықтары аралығында кесілетін, сигналдық пептидінің болуына байланысты саңырауқұлақтар клеткасынан секрециялануы керек.

Целлобиогидролаза CEL6B, CEL7A амин қышқылдық ретін компьютерлік талдау арқылы cel7A генінің ашық оқу шегі (АОШ) метионинді (M) кодтайтын инициациялаушы AUG-кодонадан басталып (#) стоп кодонмен аяқталатын 524 кодоннан, ал cel 6B гені үшін - 445 кодоннан тұратындығын анықтадық.

1	M KITSTGLLA LSSLLPFALG* QSQLYGQCGG IGWSGATTCV	40
41	SGATCTVVNA YYSQCLPGSA SAPPTSTSSI GTGTTTSSAP	80
81	GSTGTTTPAA GNPFTGYEIIY LSPYYANEIA AAVTQISDPT	120
121	TAAAAAKVAN IPTFIWLDQV AKVPDLGTYL ADASAKQKSE	160
161	GKNYLVQIVV YDLPDRDCAA LASNGEFTIA DNGEANYHDY	200
201	IDQIVAQIKQ YPDVHVAVI EPDSLNLVLT NLSVAKCANA	240
241	QTTYLECPTY AMQQLSAVG V TMYLDAGHAG WLGWPANLSP	280
281	AAQLFTSLYS NAGSPSGVRG LATNVANYNA LVATTPDPIT	320
321	QGDPNYDEML YIEALAPLLG SFPAHFIVDQ GRSGVQDIRQ	360
361	QWGDWCNVLG AGFGTQPTTN TGSSLIDSIV WVKPGGECDE	400
401	TSNTSSPRYD AHCGLPDATP NAPEAGTWFG AYFETLVEKA	440
441	NPPL#	445

Бірінші аминқышқылы - метионин (**M**) қанық шрифтпен көрсетілсе, сигналдық пептидтің кесілу орны жұлдызшамен (*) көрсетілген. # - белгісімен стоп-кодон орны белгіленген.

Сурет 2 - CEL6B целлобиогидролазаның аминқышқылдық реті

cel7A және cel6B гендерінің мРНҚ (кДНК) нуклеотидтік ретін компьютерлік талдау арқылы *L. edodes* саңырауқұлағынан бөліп алынған РНҚ препараттары негізінде жоғарыда аталған гендерді кері транскрипция реакциясы (КТР) және полимеразды тізбектік реакция (ПТР) әдістері көмегімен амплификациялау үшін олигонуклеотидтік праймерлер есептеліп, синтезделіп алынды.

*Sma*I

cel 7A Rev: 5' -CTA**C**|**CCGGG**CTACAAACATTGACTGTAGTAAGG-3'

cel 7A Dir: 5' -GATCA**CCATGG**TCCGAACAGCAGCTCTCCTCT-3'

*Nco*I

*Sma*I

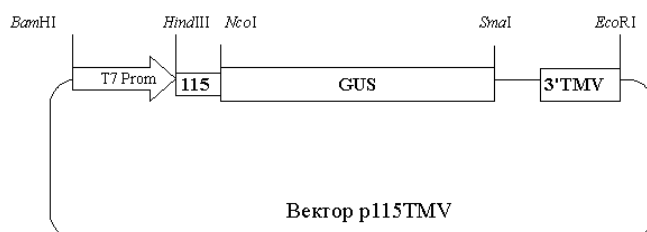
cel 6B Rev: 5' -CTA**C**|**CCGGG**CTATAGAGGAGGGTTGGCCTTTT-3'

cel 6B Dir: 5' -GCTA**CCATGG**AGATTACTTCCACTGGCTTA-3'

*Nco*I

Сұр фонда қанық курсивпен *Sma*I рестрикциялаушы эндонуклеаза ферментінің рестрикциялық сайты, ал күңгірт фонда *Nco*I рестриктаза ферментінің рестрикциялық сайты көрсетілген.

Молекулалық клондау әдістерін қолдану арқылы әртүрлі гендерді клеткасыз жүйеде және прокариоттар клеткасында клондауға мүмкіндік беретін реттеуші элементтерден тұратын кассеталық плазмидалық векторларды құрастырдық (сурет 3). Бұл вектор бұрын синтезделген басқа рекомбинантты конструкциялардан мРНҚ-ның 5'- және 3'-трансляцияланбайтын тізбектерінде локализацияланған трансляциялық энхансерлерінің (күшейткіштер) болуымен ерекшеленеді [5,6].

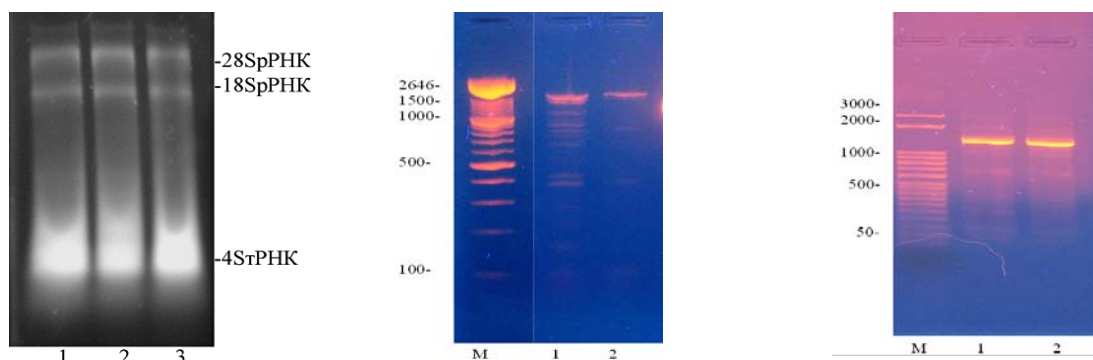


Шамамен 5300 жұп нуклеотидтен тұратын вектор *p-115-TMV* құрамына *T7* бактериофагының промоторы (*T7*), синтетикалық тізбек (115), β-глюкуронидаза гені (*GUS*) және темекі мозайкасы вирусының 3'-трансляцияланбайтын тізбегі (3'*TMV*) кіреді.

Сурет 3 - p115TMV векторының схемалық кескіні

3-суретте келтірілген векторда кезкелген геннің белок кодтаушы реті β-глюкуронидаза (*GUS*) репортерлік белогын кодтайтын нуклеотидтік тізбекті кесіп, ДНҚ сегментін алып тастағаннан кейін *Nco*I және *Sma*I рестрикциялық ферменттерінің рестрикциялық сайттары аралығында клондалуы мүмкін.

Біз жұмыс барысында *Lentinula edodes* (Шиитаки) саңырауқұлағы мицелиінен нуклеин қышқылы препаратын бөліп алдық.



1-3 - *L.edodes* мицелиінен бөлініп алынған нуклеин қышқылы препараты; Сол жағында 28S рРНҚ, 18S рРНҚ, и тРНҚ (4S) орналасуы көрсетілген.

М-маркерлік ДНҚ фрагменттері (100 ж.н.); 1-2 - КТ-ПТР өнімдері
А-*cel7A* кДНҚ амплификациясы Б - *cel6B* кДНҚ амплификациясы

Сурет 4 - *L.edodes* мицелиінен бөлініп алынған нуклеин қышқылының тотальдік препараты

Сурет 5 — Целлобиогидролаза кДНҚ гендерінің амплификациясы

4-суретте көрсетілгендей нуклеин қышқылы препаратының негізгі компоненттері 28S және 18S рибосомалық РНҚ, сонымен қатар, транспорттық РНҚ (4S, шамамен 100 нуклеотид) болып табылады. РНҚ препаратын қосымша түрде 3M LiCl –мен тұнбаға түсіру арқылы төмен молекулалы тРНҚ супернатантта қалып, препарат азды-көпті жоғарымолекулалы компоненттермен байытылды. Бұл препарат ПТР әдісі көмегімен *cel 6B*, *cel7A* геномдық ДНҚ-сын алуда қолданылды.

Тотальді РНҚ препараты негізінде кДНҚ синтездеу іске аспағандықтан, мРНҚ-ның олиго-dT целлюлозада *poli-A* байытып, кері транскрипция реакциясы (КТР) әдісі көмегімен *cel6B*, *cel7A* гендерінің кДНҚ молекуласын синтездедік және КТР өнімін полимеразды тізбектік реакция (ПТР)

әдісі арқылы амплификациялады. ПТР реакциясы үшін жоғарыда көрсетілген олигонуклеотидтік праймерлер қолданылды.

5 - суреттен расында да мөлшері шамамен 1571 ж.н. тұратын cel7A кДНК-ға және 1335 ж.н. тұратын cel6B кДНК-ға сәйкес келетін амплификация өнімдері алынғанын көруге болады.

Целлобиогидролаза ферментінің cel7A және cel6B кДНК-сының нуклеотидтік қатарын компьютерлік талдау нәтижесінде олардың трансляция өнімдері 7A және 6B гликозил-гидролазала тұқымдасына жататындығы дәлелденді. Целлобиогидролаза белоктарының аминқышқылдық ретін талдау олардың нативтік сигналдық пептидінің болуына байланысты саңырауқұлақ клеткасынан секрециялатындығын анықтады. кДНК-ны клондау үшін оптимальді вектор тандап алынып, рекомбинантты кассеталық конструкциясы компьютерлік моделденді. *Lentinula edodes* саңырауқұлағының нуклеин қышқылы препараты бөлініп алынып, КТР және ПТР әдістері көмегімен cel7A және cel6B гендерінің кДНК-сы амплификацияланды. кДНК амплификациясының өнімдерінің электрофорездік анализі жасалынды.

Әдебиеттер

1 А.П. Синицын, А.В. Гусаков, В.М. Черноглазов. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов: Учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 1995.

2 М.Л. Рабинович, М.С. Мельник. Прогресс в изучении целлюлолитических ферментов и биodeградация высокоупорядоченных форм целлюлозы. Успехи биологической химии, т. 40, с. 205-266

3 Johnson, E. A. 1983. Regulation of cellulase activity and synthesis in *Clostridium thermocellum*. Ph.D. thesis. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass.

4 Charles C Lee, Dominic W.S. Wong, George H Robertson (2001) Cloning and characterization of two cellulase genes from *Lentinula edodes* FEMS Microbiology Letters 205 (2), 355–360. doi:10.1111/j.1574-6968.2001.tb10972.x

5 Bayer, E. A., E. Morag, and R. Lamed. 1994. The cellulosome – a treasure trove for biotechnology. Trends Biotechnol. 12:379–386.

6 Bayer, E. A., E. Morag, Y. Shoham, J. Tormo, and R. Lamed. 1996. The cellulosome: a cell surface organelle for the adhesion to and degradation of cellulose, p. 155–182. In M. Fletcher (ed.), Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity. Wiley-Liss, Inc., New York, N.Y.

Резюме

В результате компьютерного анализа нуклеотидной последовательности cel7A и cel6B кДНК было доказано что продукты их трансляции относятся к 7A и 6B гликозил-гидролазному семейству ферментов. Были амплифицированы cel7A и cel6B кДНК с применением реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции из препарата нуклеиновых кислот выделенного из мицелиев гриба и *Lentinula edodes*.

Resume

By using a RT-PCR strategy two cellulase cel7A and cel6B cDNA genes from Shiitake mushroom *Lentinula edodes* were amplified. It has been shown that products of their translation belonged to glycosyl hydrolase family 7 and 6 and had sequence similarities to cbhII genes from other fungi.

УДК 577.21:633.1

Е.К. Турусбеков

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ГЕНОМА ЯЧМЕНЯ, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИХ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

(Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ КН МОН РК)

Проведен PCR анализ родительских форм экспериментальной картирующей популяции – сорта Южно Казахстанский 43 (ЮК43) и линии дикорастущего ячменя *H.spontaneum* K. (*H.sp*) из Израиля с использованием 45 комбинаций AFLP и 57 пар SSR-праймеров с целью идентификации полиморфных маркеров для построения групп сцепления ячменя. Построена генетическая карта ячменя ЮК43 x *H.sp* с использованием 17 SSR и 50 AFLP маркеров. Осуществлен анализ структуры урожая и физиологобиохимические тесты родительских форм и 114 линий экспериментальной популяции ЮК43 x *H.sp*. Использование генетической карты генома ячменя и статистических прикладных программ ANOVA и QTL Cartographer позволило выявить 12 QTL, детерминирующих показатели, ассоциированные с засухоустойчивостью. Обнаружено 5 ДНК маркеров, тесно сцепленных с идентифицированными QTL, ассоциированными с засухоустойчивостью.

Ячмень является одной из важнейших сельскохозяйственных культур в Казахстане. Абиотические стрессы, включая засушливые сезоны, характерны для Казахстана и многих других стран с сельскохозяйственной ориентацией и наносят существенный урон продуктивности зерновых культур, включая ячмень. Наиболее эффективным способом идентификации генов, контролирующих такие сложные признаки, как засухоустойчивость, является метод картирования локусов количественных признаков (*quantitative traits loci* – QTL). С развитием детально разработанных генетических карт появилась реальная возможность картирования QTL, ассоциированных с количественными признаками, влияющими на урожайность и качество зерна. В настоящее время для построения генетических карт используют различные классы молекулярных маркеров. Для построения первичного генетического каркаса для каждой хромосомы необходимо использовать ДНК-маркеры, специфичные для каждой хромосомы генома [1,2]. В качестве такого типа маркеров в первую очередь используются известные SSR-маркеры, равномерно локализованные по всем хромосомам ячменя. Для последующего развития генетических карт чаще всего используются AFLP-маркеры. Несмотря на случайность распределения AFLP по геному, вследствие возможности обнаружения их сцепления с базовыми SSR-маркерами хромосом, появляется реальная возможность построения хорошо разработанных генетических карт для всех хромосом генома [2]. Одним из важных моментов при построении генетических карт является выбор типа картирующей популяции. Существует несколько основных типов популяций, используемых для картирования геномов растений полученных в результате скрещивания родительских форм: 1) F₂ и бэкросные популяции; 2) рекомбинантные инбредные линии (RILs); 3) дигаплоидные линии (DHL) [3, 4]. Наиболее простыми и чаще всего используемыми в генетике зерновых культур являются F₂ и бэкросные популяции [2-4]. Преимуществом и новизной данной работы является использование генетического ресурса дикорастущего ячменя, поскольку один из родителей картирующей популяции является линией *H.spontaneum* из Израиля.

Идентификация и картирование главных QTL, обнаружение высоко полиморфных ДНК-маркеров ячменя, одного из модельных объектов зерновых культур, ввиду сравнительно небольшого размера его генома (по сравнению с мягкой пшеницей *Triticum aestivum* L.) и количества хромосом (7), позволят оптимизировать процесс отбора перспективных линий [3].

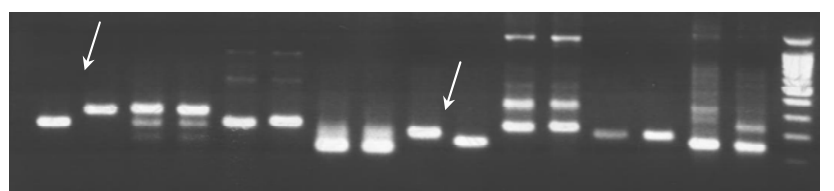
Материалы и методы

Объекты исследований – 1) родительские формы – сорт Южно-Казахстанский 43 (ЮК43) и линия дикорастущего ячменя *Hordeum spontaneum* Koch. (Hsp) из Израиля, 2) экспериментальная картирующая популяция, состоящая из 114 линий ячменя Южно-Казахстанский 43 x *Hordeum spontaneum* К. (ЮК43 x Hsp). Для полевого опыта семена линий и родительских форм высевали в 2-х повторностях в условиях богары и полива на опытных участках НПЦЗиР (Алматинская область).

Основные методы исследований – выделение тотальной ДНК (DeLaPorta, 1983) с некоторыми модификациями; метод полимеразной цепной реакции (PCR) – SSR-PCR и AFLP-PCR. Реакционная среда для амплификации с SSR включала 0.2 мМ каждого dNTP, 250 мкМ каждого праймера, 1.5 мМ MgCl₂, 1 ед. Taq-полимеразы, 50–100 ng исследуемой ДНК. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР), включающую предварительную денатурацию тотальной ДНК при 94°C в течение 1 мин., последующие 30-40 циклов (94°C – 1 мин., 50-60°C – 30 сек., 72°C – 1 мин.) и элонгацию при 72°C – 5 мин., проводили на термоамплификаторе. Количество циклов и температура отжига зависели от праймера. Для анализа полиморфизма ячменя с использованием AFLP маркеров геномную ДНК (50 нг) подвергали разрезанию с использованием *EcoRI* и *MseI*. После лигирования *EcoRI*- и *MseI*-адаптеров проводили преамплификацию с праймерами *EcoRI* и *MseI* без селективных нуклеотидов. Продукты преамплификации использовали для селективной амплификации, которую проводили с использованием специфических праймеров, с двумя-тремя дополнительными селективными нуклеотидами для обоих *EcoRI* и *MseI* праймеров. Продукты амплификации, полученные в результате SSR-PCR и AFLP-PCR, разделяли электрофоретически. В работе использована методика /4/ проращивания семян в условиях, имитирующих засуху для ярового ячменя. Стандартные статистические анализы проводили с использованием *Microsoft Excel 98* (Version 8.0) и ANOVA. Картирование QTL осуществляли с использованием прикладных программ *QTL Cartographer*, версия 1.16c.

Результаты и их обсуждение

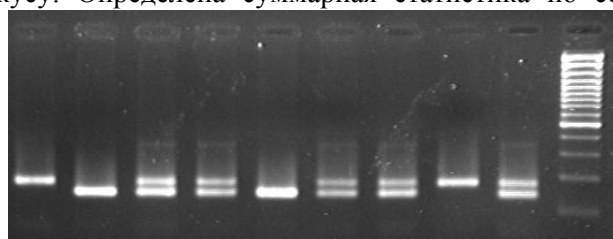
В результате ПЦР-анализа родительских форм экспериментальной популяции ЮК43 x Hsp с использованием 57 пар SSR-праймеров, обнаружен полиморфизм по 19 парам. На рисунке 1 представлены электрофоретические профили SSR-маркеров, амплифицированных при использовании 8 из 19 пар SSR-праймеров, разделенных в 1,8% агарозном геле.



v – ЮК 43, s – *Hsp.*, М – маркер молекулярных весов (100п.н.);
стрелками обозначен полиморфизм между родительскими формами

Рисунок 1 – Результаты PCR-анализа сортов Южно-Казахстанский 43 и линии дикорастущего ячменя *H. spontaneum* К. с использованием SSR праймеров

Осуществлен скрининг 114 линий картирующей популяции ЮК43 x *Hsp* с использованием полиморфных микросателлитных маркеров. На рисунке 2 в качестве примера представлены электрофоретические профили SSR-маркеров, полученных при использовании праймеров HVM40. Обнаружены варианты продуктов амплификации, характерные для родительских форм и гетерозиготе по данному локусу. Определена суммарная статистика по сегрегации выявленных



маркеров.

В А Н Н А Н Н В Н М
А – ЮК 43, В – *Hsp*, Н – гетерозигота по HVM40, М – маркер молекулярных весов

Рисунок 2 – Результаты SSR-PCR-анализа родительских форм и картирующей популяции ЮК 43 x *H.sp* с использованием праймеров HVM40

В результате PCR-анализа родительских форм экспериментальной картирующей популяции с использованием 30 комбинаций AFLP-праймеров (*EcoRI* и *MseI*) выявлен генетический полиморфизм по 26 комбинациям AFLP праймеров: от 2 до 13 маркеров на комбинацию. Обнаруженные полиморфные AFLP-маркеры были использованы для скрининга 114 линий картирующей популяции ЮК43 x *Hsp*. В таблице 1 представлены наиболее значимые маркеры, обнаруженные в результате AFLP-анализа.

Таблица 1 – AFLP-маркеры, использованные для построения генетической карты ячменя Южно-Казахстанский 43 x *Hordeum spontaneum* Koch.

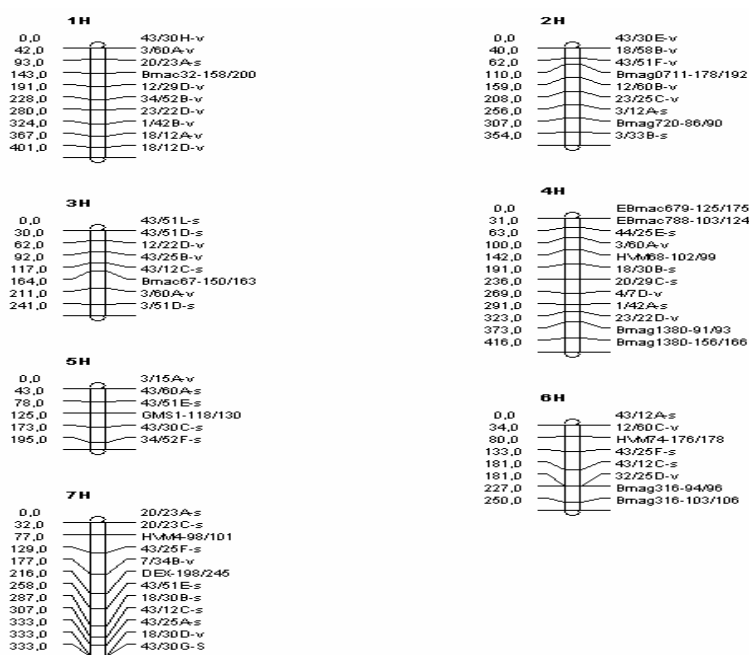
Хромосома	Маркеры
1Н	1/42b, 23/22d, 20/23a, 18/12a, 18/12d, 34/52b, 12/29d, 3/60a, 43/30h
2Н	3/12a, 3/33b, 23/25c, 12/60b, 43/30e, 43/51f, 18/58b
3Н	3/51d, 3/60a, 12/22d, 43/25b, 43/12c, 43/51d, 43/51l, 41/51d
4Н	1/42a, 4/7d, 18/30b, 23/22d, 20/29c 3/60a, 44/25e
5Н	34/52f, 43/30c, 43/51e, 43/60a
6Н	12/60c, 32/25d, 43/25f, 43/12a, 43/12c, 32/25d
7Н	18/30b, 7/34b, 43/25a, 43/51e, 18/30d, 43/30g, 20/23a, 20/23c, 43/12c, 43/25f

Информация, полученная по каждой паре SSR- и AFLP-праймеров для каждого генотипа сегрегирующей популяции, использована для построения групп сцепления ячменя и локализации маркеров на карте (табл. 2). Определены локализация ДНК-маркеров и генетические расстояния между

ними для каждой группы сцепления. На рисунке 3 представлены группы сцепления 1-7 (хромосомы 1-7) ячменя, построенные на основе результатов AFLP и SSR анализа картирующей популяции ЮК43 х *Hsp*.

Таблица 2 – Суммарная информация по распределению молекулярных маркеров на генетической карте ячменя ЮК 43 х *Hsp*

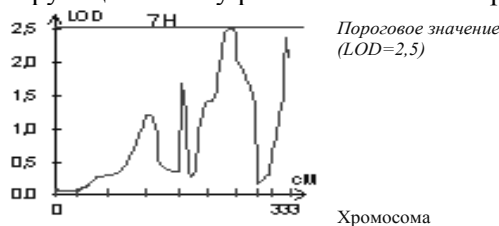
Хромосома	Маркеры		Количество маркеров на хромосому
	SSR	AFLP	
1	1	9	10
2	2	7	9
3	1	7	8
4	5	7	12
5	3	5	8
6	3	5	8
7	2	10	12
Всего	17	50	67



1H-7H – хромосомы ячменя. Справа – молекулярный маркер, слева – расстояние от начала хромосомы до местоположения маркера на карте в сантимегридах (сМ)

Рисунок 3 – Генетическая карта ячменя Южно-Казахстанский 43 х *H. spontaneum* Koch.

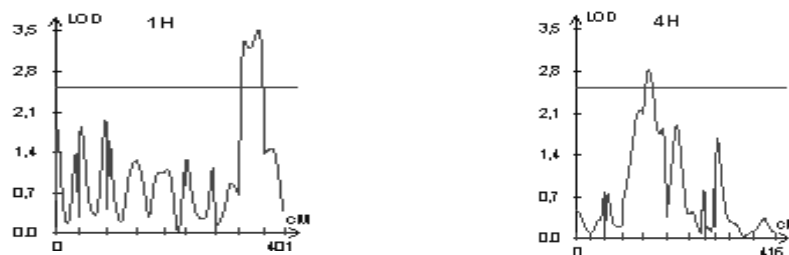
На рисунках 4 и 5 представлены графики, показывающие QTL, детерминирующие высоту растений в условиях полива и полуобеспеченной богары. Для поливных условий обнаружен QTL (LOD 2,5), картированный на хромосоме 7H (рис. 4). Было обнаружено два локуса, проявившиеся в условиях богары, картированные на хромосомах 1H и 4H, с LOD 3,47 и 2,80, соответственно (рисунок 5). Marquez-Cedillo L.A. (2001), используя генетическую карту ячменя *Morex* х *Harrington*, идентифицировали QTL, детерминирующие высоту растений также на хромосомах 1H, 4H и 7H [4].



по оси абсцисс – длина хромосомы в сМ, по оси ординат – LOD (значение QTL)

Рисунок 4 – Хромосомная локализация QTL признака «высота растений»

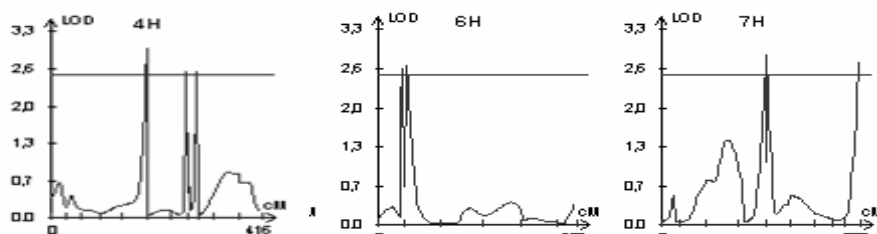
линий ячменя ЮК43 х *Hsp*, выращенных в поливных условиях



по оси абсцисс – длина хромосомы в сМ, по оси ординат – LOD (значение QTL)

Рисунок 5 – Хромосомная локализация QTL, детерминирующих признак «высота растений» линий ячменя ЮК43 х *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

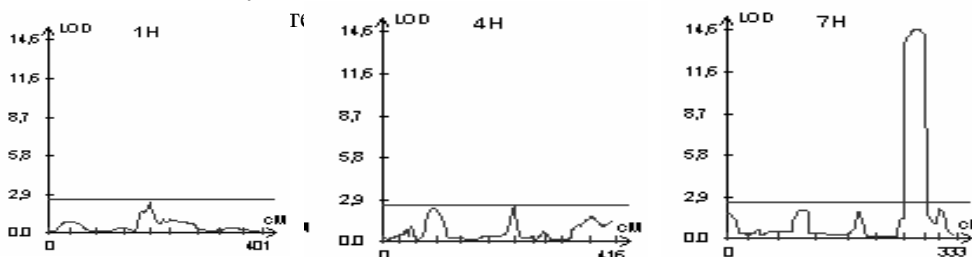
По признаку «число продуктивных колосьев» в условиях полива обнаружено 13 QTL, картированных на хромосомах 1Н (2 QTL), 2Н (4 QTL), 3Н, 4Н (3 QTL), 6Н, 7Н (2 QTL) с LOD в пределах от 2,54 до 3,30 (рисунок 6).



по оси абсцисс – длина хромосомы в сМ, по оси ординат – LOD (значение QTL).

Рисунок 6 – Хромосомная локализация QTL, детерминирующих признак «количество продуктивных колосьев» линий ячменя ЮК43 х *Hsp*, выращенных в поливных условиях

В условиях полуобеспеченной богары проявилось только 4 QTL – на хромосомах 1Н, 4Н (2 QTL) и 7Н (рисунок 7). Главный QTL, обнаруженный на хромосоме 7Н имел высокое значение LOD, равный 14,5, что свидетельствует о его высокой значимости и вкладе в проявление общей изменчивости



по оси абсцисс – длина хромосомы в сМ, по оси ординат – LOD (значение QTL). LOD 2,5 – пороговое значение

Рисунок 7 – Хромосомная локализация QTL для признака «количество продуктивных колосьев» линий ячменя ЮК43 х *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

На рисунке 8 представлены графики QTL, детерминирующие признак «количество зерновок с 1 растения» в неполивных условиях. Локус, картированный на хромосоме 4 ячменя, расположен примерно в том же регионе хромосомы, что и QTL, контролирующей высоту растения.

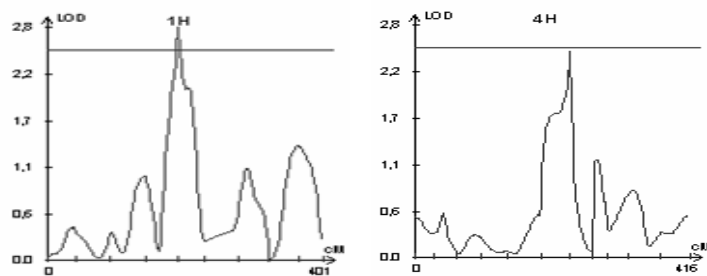


Рисунок 8 – Хромосомная локализация QTL для признака «количество зерновок с 1 растения» линий ячменя ЮК 43 x *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

Для показателя «длина колоса» идентифицирован единственный значимый QTL (LOD 3,39), проявившийся только в условиях богары (рисунок 9). Он был картирован на длинном плече хромосомы 3Н. На рисунке 10 показана локализация QTL, детерминирующих признак «количество колосков» в колосе, проявившийся в неполивных условиях. Картировано 3 QTL – на хромосомах 1Н (2 QTL) и 4Н (рис. 10). На рисунке 11 показана локализация QTL, детерминирующих признак «длина остей», для поливных (а) и неполивных (б) условий. Картировано 2 QTL на длинном и коротком плечах хромосомы 4Н (рисунок 11).

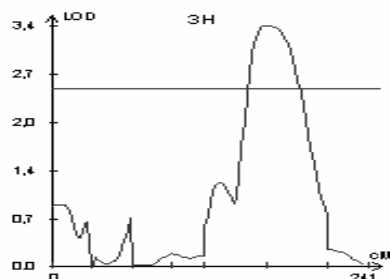


Рисунок 9 – Хромосомная локализация QTL, детерминирующих признак «длина колоса» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

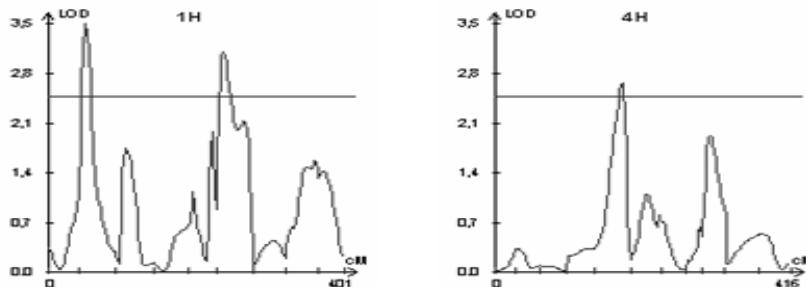


Рисунок 10 – Хромосомная локализация QTL, детерминирующих признак «число колосков в колосе» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

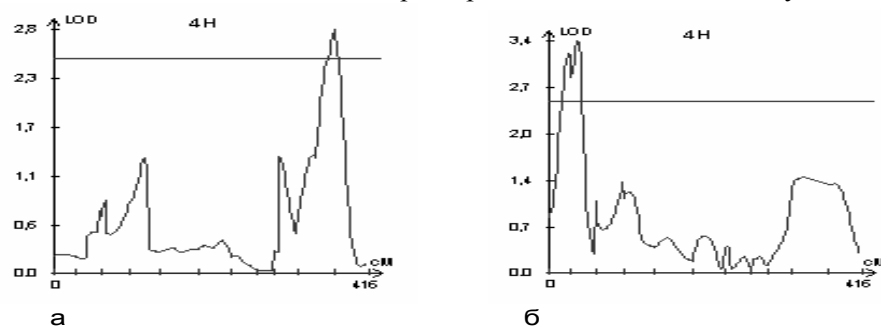
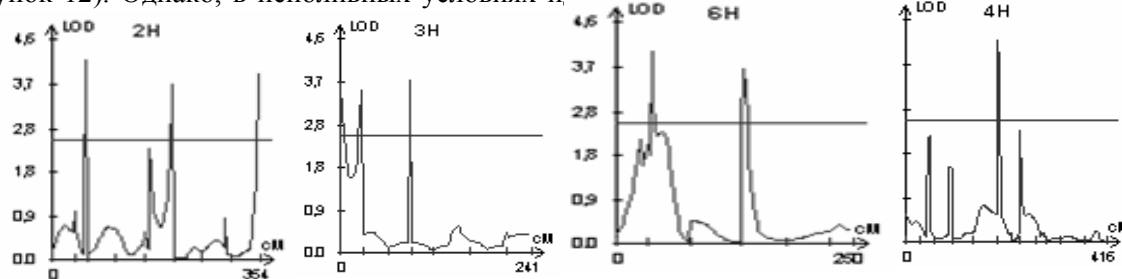


Рисунок 11 – Хромосомная локализация QTL для признака «длина остей» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в поливных (а) и неполивных (б) условиях

Таким образом, при использовании генетической карты ячменя Южно-Казахстанский 43 x *H.spontaneum* К. нами обнаружены и картированы локусы количественных признаков, детерминирующие морфологические показатели, проявляющиеся в условиях полива и богары.

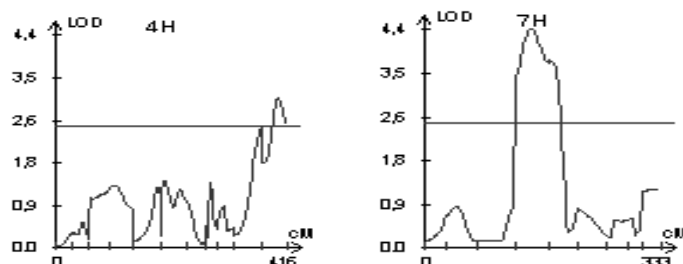
По показателю «относительное содержание воды» во флаговых листьях у растений, выращенных на поливе, было обнаружено 15 QTL, распределенных по хромосомам ячменя следующим образом: по 3 QTL на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н, 5Н, один – на 4Н и два – на 6Н хромосоме (рисунок 12). Однако, в неполивных условиях идентифицировано только 2 QTL ассоциированные на хро



по оси абсцисс – длина хромосомы в cM, по оси ординат – LOD (значение QTL).

Рисунок 12 – Хромосомная локализация QTL, детерминирующих «относительное содержание воды» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в поливных условиях

Diab et al (2004), используя метод сложно-интервального картирования, также идентифицировали QTL, ассоциированные с толерантностью к засухе (RWC, осмотический потенциал и др.). Количество идентифицированных ими QTL варьировало от 1 до 12 [7].



по оси абсцисс – длина хромосомы в cM, по оси ординат – LOD (значение QTL)

Рисунок 13 – Хромосомная локализация QTL признака «относительное содержание воды» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

Teulat B et al (2003) также изучали генетический контроль RWC у ячменя, выращиваемого в полевых условиях. Ими идентифицировано 9 хромосомных регионов, вовлеченных в проявление признака [8]. По показателю «процент прорастания семян в растворе сахарозы» обнаружено 30 QTL для поливных условий на всех хромосомах ячменя (от 2 до 6 QTL на хромосому). Для неполивных условий QTL идентифицированы на хромосомах 3 и 4 ячменя (рисунок 14).

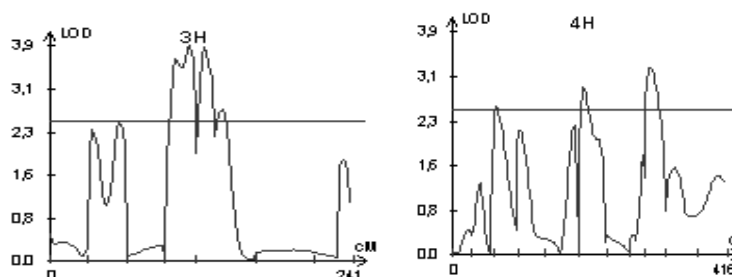


Рисунок 14 – Хромосомная локализация QTL признака «процент прорастания семян в растворе сахарозы» линий ячменя ЮК43 x *Hsp*, выращенных в неполивных условиях

По признаку ВС листьев у растений, выращенных как на поливе, так и на полуобеспеченной богаре, обнаружено по 22 QTL, картированные на всех хромосомах ячменя, с одной лишь разницей в количестве QTL на хромосому и расположением некоторых из них на хромосоме. Так, для условий полива распределение локусов выглядело следующим образом: 1 (6 QTL), 2, 3 (4 QTL), 4 (5 QTL), 5 (2 QTL), 6, 7 (3 QTL), в то время как на богаре несколько иначе – 1 (3 QTL), 2 (5 QTL), 3 (3 QTL), 4 (3 QTL), 5 (3 QTL), 6 (2 QTL) и 7 (4 QTL). Обнаружено, что независимо от условий выращивания линий (полив/богара) 14 локусов полностью совпали, что свидетельствует о вкладе генотипа в проявление этого признака. При этом значения LOD при анализе этого признака, проведенном на растениях с поливного участка были выше у всех QTL (на 1,0-3,5), за исключением QTL на хромосоме 7Н. На хромосомах 2Н, 6Н и 7Н были обнаружены QTL, характерные только для неполивных условий выращивания. В таблице 4 дана суммарная информация по локусам количественных признаков, выявленных при использовании генетической карты ячменя ЮК43 x *Hsp*, в том числе по QTL, характерным для обоих условий и по отдельности.

Таблица 4 – Суммарная информация по локусам количественных признаков, выявленных при использовании генетической карты ячменя ЮК43 x *Hsp*

Признак	Количество QTL		Число общих QTL	Сумма QTL
	Полив	Богара		
Высота растений, см	1	2	-	3
Число продуктивных колосьев	13	4	2	15
Количество зерновок с 1 растения	7	2	-	9
Длина колоса, см	-	1	-	1
Число колосков в колосе	7	3	-	10
Длина остей, см	1	1	-	2
Относительное содержание воды	15	2	-	17
Процент прорастания семян в растворе осмотика	30	6	4	32
Водопоглотительная способность	22	23	14	31
Всего QTL:	96	44	20	120

Таким образом, результаты наших исследований подтверждают сложный генетический контроль признаков, ассоциированных с засухоустойчивостью. Результаты исследований будут использованы для обнаружения молекулярных маркеров QTL для применения в молекулярной селекции ячменя.

Выявлены корреляции между конкретным признаком и генотипом по каждому молекулярному маркеру карты. В таблице 5 приведены QTL, ассоциированные с засухоустойчивостью ячменя и сцепленные с ними ДНК-маркеры, выявленные в результате QTL-анализа картирующей популяции ЮК43 x *Hsp*. Полученные результаты способствуют расширению фундаментальных знаний по генетическому контролю изученных признаков, участвующих в формировании качества мягкой пшеницы и будут использованы в программах, направленных на генетическое улучшение качества посредством молекулярной селекции (MAS) и дальнейшего усовершенствования методологии современной селекции.

Таблица 5 – Локусы количественных признаков, ассоциированные с засухоустойчивостью ячменя и сцепленные с ними ДНК-маркеры, выявленные в результате QTL-анализа картирующей популяции ЮК43 x *Hsp*

Маркер	Хромосома		Признак	Значимость
34/52B	1Н	богара	RWC	**
			ППС	*
		полив	Вес главного колоса, Кол-во прод. колосьев	* *
12/29D	1Н	богара	RWC, Высота растения	** *
Вмас67	3Н	богара	Длина колоса, Форма колоса	*** **
		полив	Форма колоса, Ширина колоса	**** ****

ЕВmac788	4Н	богара	Длина остей	**
3/60А	4Н	богара	RWC	**
43/25F	7Н	богара	RWC, ППС	** *
7/34В	7Н	богара	RWC	***

Идентификация главных QTL позволила: 1) отобрать перспективные линии - доноры для селекции на повышение толерантности к засухе; 2) выявить ДНК-маркеры, сцепленные с обнаруженными QTL, и гаплотипы (комбинации аллелей локусов), статистически связанные с засухоустойчивостью, рекомендованные для использования в молекулярной селекции, ДНК-генотипирования и паспортизации генетических ресурсов пшеницы Казахстана.

Заключение

114 линий картирующей популяции озимого ячменя Южно-Казахстанский 43 х *H.spontaneum* К. анализированы по комплексу показателей, ассоциируемых с засухоустойчивостью: способности прорастания семян в растворе осмотика (ППС), водопоглотительной способности (ВС) и относительному содержанию воды (ОСВ) в листьях. Выявлено 15 линий с показателями ППС, ОСВ, ВС в условиях богары, позволяющими отнести их к засухоустойчивым генотипам. Все линии картирующей популяции ячменя охарактеризованы по комплексу показателей, ассоциируемых с засухоустойчивостью. На основе использования 17 микросателлитных и 50 AFLP маркеров построена генетическая карта ячменя Южно-Казахстанский 43 х *Hordeum spontaneum* Koch. Полученные результаты использованы для генетического картирования локусов количественных признаков (QTL). Выявлены QTL для 9 показателей ячменя для условий полива и богары. При этом обнаружено 20 локусов, характерных для обоих условий. Для богарных условий выявлено вдвое меньше локусов, ассоциированных с толерантностью к засухе по сравнению с поливом. Выявление ассоциаций молекулярных маркеров с локусами количественных признаков, наряду с применением классических методов, является необходимым этапом на пути эффективного изучения генетических основ комплексной устойчивости и продуктивности зерновых, выявления ценных генотипов, с дальнейшим использованием полученных данных для целенаправленного генетического улучшения возделываемых культур.

Литература

- 1 Hori K., Kobayashi T., Shimizu A., Sato K., Takeda K. Kawasaki S. Efficient construction of high-density linkage map and its application to QTL analysis in barley // *Theor Appl Genet.* – 2003. – V. 107. – P. 806-813.
- 2 Туруспеков Е.К.. Картирование генома ячменя // *Биотехнология. Теория и практика.* – 2005. – №4. – С.8-21.
- 3 Li JZ, Huang XQ, Heinrichs F, Ganai MW, Röder MS. Analysis of QTLs for yield components, agronomic traits, and disease resistance in an advanced backcross population of spring barley. *Genome.* – 2006. – V. 49(5). – P. 454-66.
- 4 Marquez-Cedillo L.A. QTL analysis of agronomic traits in barley based on the doubled haploid progeny of two elite North American varieties representing different germplasm groups // *Theoretical and Applied Genetics.* – 2001. – V. 103. – P. 625-637.
- 5 Abugalieva S.I., Abugalieva A.I., Ledovskoy Yu., Zhumakhanova A., Shigenova E.T., Turuspekov Ye.K. Wild barley as a source for drought tolerant genotypes in breeding program of Kazakhstan. 14th Meeting of the European Cereals Genetics Co-operative, Istanbul, Turkey, May 6 - 10 2007, P. 27.
- 6 Diab A.A., Teulat-Merah B., This D., Ozturk N.Z., Benscher D., Sorrells M.E. Identification of drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags in barley // *Theoretical and Applied Genetics.* – 2004. – V. 109. – P. 1417-1425.
- 7 Teulat B., Zoumarou-Wallis N., Rotter B., Ben Salem M., Bahri H., This D. QTL for relative water content in field-grown barley and their stability across Mediterranean environments. *Theor Appl Genet.* – 2003. – V. 108. – N.1. – P.181-188.

Тұжырым

Арпаның тіркескен топтарына құруға арналған полиморфты маркерлерді идентификациялау мақсатында карталанатын Южно-Казахстанский 43 сұрыбы мен Израилдік жабайы арпаның *H.spontaneum* К топтарының тәжірибелік популяцияларына 30 AFLP және 50 SSR-праймерлерін пайдалана отырып PCR талдауы жасалды. Ата-ана жұбының ДНҚ-на SSR және AFLP талдау жүргізу

нәтижесінде SSR-праймерлінің 17 жұбы және AFLP-праймерлінің 22 комбинациясы бойынша генетикалық полиморфизм анықталды. Анықталған полиморфты микросателиттік және AFLP-маркерлерін пайдалана отырып карталанатын ЮК43×*Hsp* папуляциясының 114 тобына скрининг жүргізілді. AFLP-праймерінің 22 комбинацияна 116 полиморфты жолақ анықталды – 1 комбинацияға 2-ден 13-ке дейін маркер сәйкес келді. Анықталған полиморфты AFLP- және SSR-маркерлері жайлы ақпараттар жиынтығы арпаның тіркесу тобын құруға пайдаланылды. Әр бір тіркесу топтары үшін ДНҚ маркерінің локализациясы және олардың бір-бірінен арақашықтығы анықталды. Арпаның алғашқы генетикалық картасы құрылды. Ата-аналық жұптары мен тәжірибелік ЮК43×*Hsp* папуляциясының 114 тобының өнімдеріне құрылымы талдау және физиологиялық-биохимиялық тест жасалды. Алынған нәтижелер арпаның сандық белгілері локустарының генетикалық картасын жасауға қолданады.

Summary

In order to develop genetic map of Yuzhnokazhstanskaya 43 x *Hsp* line from Israel we have selected polymorphic markers based on PCR (polymerase chain reaction) of 45 AFLP combinations and 57 SSR-oligonucleotide primer pairs. The genetic map was consisted from 17 SSR and 50 AFLP markers. The mapping population that consisted from 114 F₂ lines of Yuzhnokazhstanskaya 43 x *Hsp* was analyzed for phenological and agronomic traits. The analysis of mapping population and quantitative data based on ANOVA and QTLCartografer statistical programs were allowed to identify 12 QTLs that associated with drought resistance. Five DNA markers that tightly linked with identified QTLs were suggested to use for programs, which will be associated with breeding of new cultivars for better resistance to drought.

Жарков Н.В., Нуртазин С.Т., Жаркова И.М.
ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОПУХОЛЬ-
АССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ В КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ КАРЦИНОМАХ
(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Изучена морфология и распределение опухолей ассоциированных макрофагов в колоректальных карциномах. Установлено, что макрофаги в ткани опухоли распределены неравномерно и отличаются морфологически. Наибольшая плотность макрофагальной инфильтрации отмечена в окружающей опухоль строме. В опухоли и пограничной слизистой различия в плотности макрофагальной инфильтрации статистически недостоверны ($p=0,63$).

Впервые воспалительные клетки в опухоли и по ее периферии были описаны в 1863 году Рудольфом Вирховым [1]. Известно, что воспалительные клетки, инфильтрирующие опухоли, представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из разных субпопуляций Т-лимфоцитов (хелперов, супрессоров и цитотоксических лимфоцитов), В-лимфоцитов, естественных киллеров и макрофагов [2]. Однако роль данной воспалительной инфильтрации при злокачественных новообразованиях до сих пор до конца не ясна. Изначально предполагалось, что воспалительные клетки, инфильтрирующие опухоль, проявляют исключительно противоопухолевое действие. Однако регрессия злокачественных опухолей под действием иммунной системы встречается крайне редко. И более того, известно, что иммунные клетки зачастую проявляют функции, способствующие опухолевой прогрессии [3, 4].

Основную часть воспалительных клеток, инфильтрирующих большинство опухолей и их метастазов, составляют ассоциированные с опухолью макрофаги [5, 6]. Причем действие опухолево-ассоциированных макрофагов может быть как противоопухолевое, так и стимулирующее прогрессию опухоли [7, 8]. Противоопухолевое действие макрофагов обычно связано как с действием синтезируемых литических ферментов, так и с непосредственным цитотоксическим действием на опухолевые клетки [9, 10]. Проопухолевое действие макрофагов заключается в стимуляции ангиогенеза и синтезе противовоспалительных цитокинов и простаноидов [11, 12]. Кроме того, макрофаги могут подавлять активность Т-лимфоцитов [13, 14] и естественных киллеров (NK-клеток) [15].

Количество макрофагов в различных опухолях может различаться в значительных пределах [2, 4, 16]. Степень и особенности макрофагальной инфильтрации метастатических поражений изучены меньше, однако установлено, что макрофаги также являются обязательным компонентом стромы вторичных поражений [16-19]. В метастазах уровень макрофагальной инфильтрации может в значительной степени меняться, поскольку опухолевые клетки в метастазах из-за накопления мутаций и другого клеточного микроокружения могут отличаться по способности привлекать моноциты [20].

Имеются отдельные публикации относительно изменения количества макрофагов на разных стадиях развития опухоли, но пока не удалось достоверно проследить в динамике изменения, происходящие как с макрофагами, так и со спектром сигнальных молекул, которые они синтезируют в процессе прогрессии опухоли [21, 22]. Экспериментально показано, что на численность макрофагов в опухоли, прежде всего, влияют сигнальные молекулы, синтезируемые именно опухолевыми клетками, а не Т-лимфоцитами или NK-клетками [17].

Цель исследования – изучить особенности морфологии и распределения опухолево-ассоциированных макрофагов в злокачественных новообразованиях толстой кишки.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужил послеоперационный материал 79 больных раком толстой кишки. У большинства больных ($n=71$) на момент операции была выставлена 3 стадия заболевания, у 5 больных была выставлена II стадия и у 3 больных - IV стадия заболевания.

Забор и фиксация материала в 10% растворе забуференного формалина проводились по стандартным гистологическим методикам. Затем после проводки материал заливался в парафин и из парафиновых блоков изготавливались серийные срезы толщиной 5 мкм для последующего гистологического и иммуногистохимического исследования. Для гистологического исследования препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Для выявления опухолево-ассоциированных

макрофагов проводилось иммуногистохимическое исследование с коммерческими антителами к белку CD68 (панмакрофагальный маркер, клон PG-M1, титр разведения 1:100, производства Dako, Дания). В качестве хромогена использовался диаминобензидин.

Количество опухоль-ассоциированных макрофагов определялось непосредственно в опухоли толстой кишки, в прилегающей к опухоли строме и в пограничной слизистой.

Подсчет количества CD68-позитивных клеток (CD68+) выполнялся на 5 полях зрения при увеличении $\times 400$. Подсчет макрофагов проводился в автоматизированном режиме при помощи компьютерной системы анализа изображения «ВидеоТест – Мастер морфология» версии 4.0 (Санкт-Петербург, Россия). После подсчета количества CD68+ клеток на 5 полях зрения выводилось среднее количество макрофагов на 1 поле зрения.

Статистическая обработка проводилась в пакете для статистических исследований SPSS 16.0 (SPSS Inc., США) методами вариационной статистики. Достоверность различий определялась при помощи критерия Стьюдента. Результаты считались достоверными при $p \leq 0,05$ (доверительный интервал 95%).

Результаты и их обсуждение

Во время стандартного гистологического исследования материала на срезах окрашенных гематоксилином и эозином устанавливались гистологический тип и степень дифференцировки опухоли. Преобладающим гистологическим типом в исследованных образцах опухолей толстой кишки была аденокарцинома – 83,5% ($n=66$). Слизистая аденокарцинома составила 13,9% ($n=11$), мелкоклеточный рак – 1,3% ($n=1$) и недифференцированный рак также 1,3% ($n=1$).



Рисунок 1 - Распределение макрофагов в опухолях толстой кишки.

По степени дифференцировки изученные опухоли распределились следующим образом: высокая степень дифференцировки – 2,6% ($n=2$), умеренная степень дифференцировки – 88,3% ($n=70$), низкая степень дифференцировки – 7,8% ($n=6$). В одном случае опухоль была недифференцированной (1,3%).

При изучении особенностей распределения макрофагальной инфильтрации в разных участках опухоли установлено, что наибольшее количество макрофагов (CD68+ клеток) отмечается в окружающей опухоль строме. Среднее количество макрофагов в перитуморальной строме было более чем в 1,5 раза больше, чем количество макрофагов непосредственно в опухоли и в пограничной с опухолью слизистой. Различия статистически достоверны (в обоих случаях $p < 0,001$). Количественные значения представлены на рисунке 1.

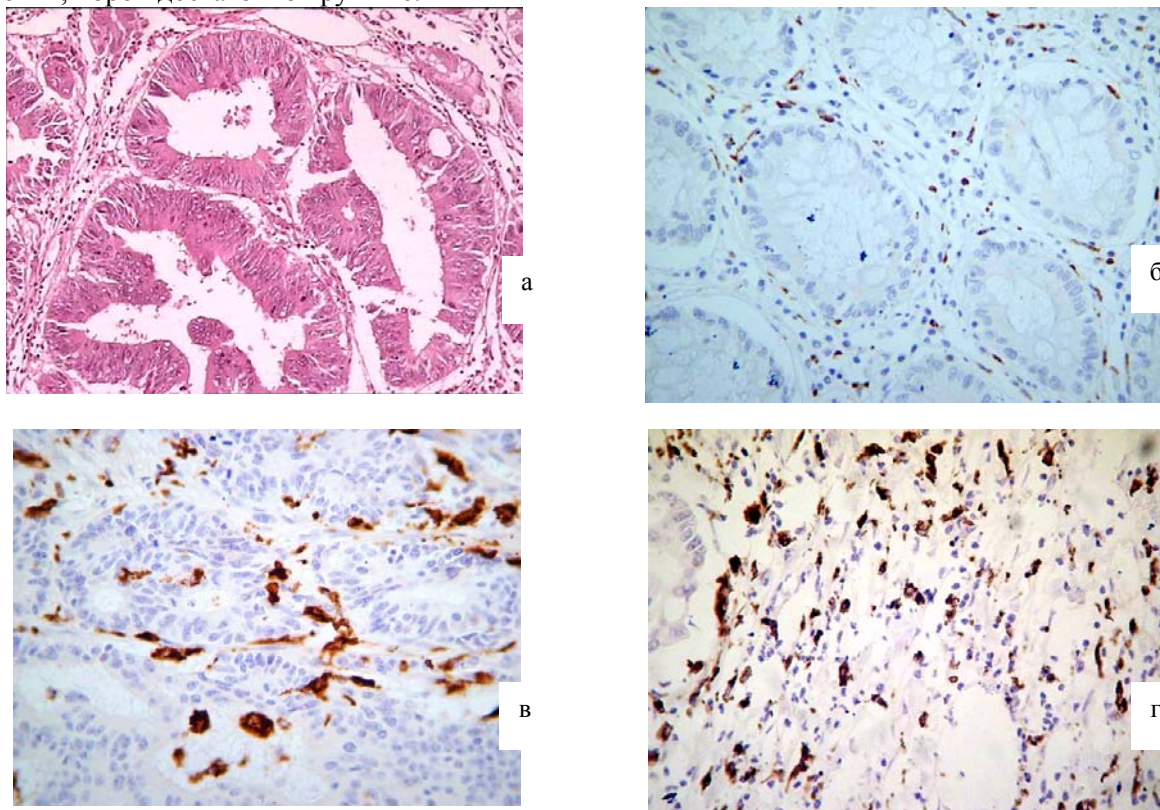
Макрофаги в разных участках опухоли различались и по своей морфологии. В пограничной слизистой рядом с разрастаниями опухолевой ткани (рисунок 2а) количество макрофагов было умеренное и представлены они в основном небольшими, вытянутыми клетками, расположенными в строме желез слизистой оболочки толстой кишки (рисунок 2б).

Непосредственно в опухоли количество макрофагов практически не изменяется в сравнении с пограничной слизистой ($p=0,63$), но меняется морфология клеток. Инфильтрирующие опухоль макрофаги становятся больше размерами с достаточно крупным, округлой или овальной формы ядром. Располагаются макрофаги в опухоли, как непосредственно в опухолевой строме, так и в виде отдельных клеток, нередко, образуя скопления, в которых трудно дифференцировать отдельные макрофаги (рисунок 2в). Единичные макрофаги проникают непосредственно в атипичные железы.

В окружающей опухоль строме, как уже было указано выше, количество CD68+ клеток резко возрастает. Но по своей морфологии они больше напоминают макрофаги, локализованные в пограничной слизистой. Это мелкие клетки, в которых трудно четко дифференцировать ядро.

Расположены они преимущественно вокруг сосудистого русла, что позволяет предположить, что это макрофаги мигрировали в окружающую опухоль ткань из кровотока. Макрофаги, инфильтрирующие в окружающую опухоль строму, формируют своего рода воспалительный вал (рисунок 2г). По мере удаления от опухоли количество CD68+ клеток несколько снижается.

Установлено, что опухоль-ассоциированные макрофаги, инфильтрирующие колоректальные опухоли, локализованы неравномерно. Наибольшая плотность макрофагальной инфильтрации отмечается в окружающей опухоль строме. Это можно объяснить активной миграцией макрофагов из кровяного русла, возможно обусловленной как местной воспалительной реакцией, так и высоким уровнем хемоаттрактантов, синтезируемых опухолевыми клетками. В опухоли же количество макрофагов резко снижается, и они меняют свою морфологию. Увеличение размеров макрофагов может служить косвенным признаком их активации. Макрофаги в опухоли могут образовывать скопления, порой достаточно крупные.



а – умереннодифференцированная аденокарцинома толстой кишки, x400, окраска гематоксилином и эозином; б - CD68+ клетки в строме желез пограничной слизистой рядом с умереннодифференцированной аденокарциномой толстой кишки, x400, иммуногистохимическое окрашивание; в – CD68+ клетки, инфильтрирующие умереннодифференцированную аденокарциному толстой кишки, x400, иммуногистохимическое окрашивание; г – CD68+ клетки в строме, окружающей умереннодифференцированную аденокарциному толстой кишки, x400, иммуногистохимическое окрашивание.

Рисунок 2 - Макрофаги, инфильтрирующие колоректальные опухоли:

Различия в количестве макрофагов внутри и по периферии опухоли, скорее всего, объясняется тем, что только часть привлеченных из кровотока макрофагов активируется, приобретает фенотип цитотоксических клеток и мигрирует непосредственно в опухоль. В активированном состоянии макрофаги могут проявлять функции, направленные на гибель опухолевых клеток (цитотоксичность, апоптоз) и/или осуществлять деструктивное действие путем нарушения микроциркуляторного русла опухоли [17].

В процессе взаимодействия макрофагов и опухолевых клеток опухоли способны ингибировать макрофагальную цитотоксичность как непосредственным действием, так и опосредованно, ингибируя активность Т-хелперов, которые в свою очередь активируют эффекторные противоопухолевые механизмы в макрофагах [23, 24]. Кроме того, что опухоли могут непосредственно снижать активность макрофагов, опухолевые клетки могут еще и модулировать синтез в макрофагах иммуностимулирующих цитокинов, например IL-18, который обуславливает иммунный ответ опосредованный лимфоцитами [25].

Таким образом, особенности распределения макрофагов и изменение их морфологии в ткани опухоли может свидетельствовать о важной роли, которую играют макрофаги, инфильтрирующие колоректальные карциномы. Роль макрофагов в опухолевой прогрессии и динамика изменения плотности макрофагальной инфильтрации на разных стадиях заболевания еще требует изучения. И широкий интерес, проявляемый к опухоли-ассоциированным макрофагам, в настоящее время, обусловлен не только изучением биологии злокачественных новообразований, но и потенциальной возможностью использования опухолевых макрофагов для модуляции роста опухоли и применения макрофагов для «целевой» доставки противоопухолевых лекарственных препаратов непосредственно в опухоль.

Литература

- 1 Mantovani A. *Tumor-associated macrophages in neoplastic progression: a paradigm for the in vivo function of chemokines* // *Biology of Disease*, 1994. № 1. P. 5.
- 2 van Ravenswaay-Claassen H.H. et al. *Tumor infiltrating cells in human cancer. On the possible role of CD16+ macrophages in antitumor cytotoxicity* // *Lab Invest*. 1992. Vol. 67. P. 166-174.
- 3 O'Sullivan C., Lewis C.E., Harris A.L., McGee J.O. *Secretion of epidermal growth factor by macrophages associated with breast carcinoma* // *Lancet*, 1993. Vol. 342. P. 148-149.
- 4 Toomey D. et al. *Phenotyping of immune cell infiltrates in breast and colorectal tumours* // *Immunol Invest*, 1999. Vol. 28. P. 29-41.
- 5 Mantovani A., Ming W.J., Balotta C., Abdeljalil B., Bottazzi B. *Origin and regulation of tumor-associated macrophages: the role of tumor-derived chemotactic factor* // *Biochim Biophys Acta*, 1986. Vol. 865. P. 59-67.
- 6 Volodko N., Reiner A., Rudas M., Jakesz R. *Tumour-associated macrophages in breast cancer and their prognostic correlations* // *Breast*, 1998. №7. P. 99-105.
- 7 Mills C.D., Shearer J., Evans R., Caldwell M.D. *Macrophage arginine metabolism and the inhibition or stimulation of cancer* // *J Immunol*, 1992. Vol. 149. P. 2709-2714.
- 8 Elgert K.D., Alleva D.G., Mullins D.W. *Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection* // *J Leukoc Biol*, 1998. Vol. 64. P. 275-290.
- 9 Grabbe S. et al. *Interferon-gamma inhibits tumor antigen presentation by epidermal antigen-presenting cells* // *J Leukoc Biol*, 1994. Vol. 55. P. 695-701.
- 10 Blachere N.E. et al. *Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T-lymphocyte response and tumor immunity* // *J Exp Med*, 1997. Vol. 186. P. 1315-1322.
- 11 Sunderkotter C. et al. *Macrophages and angiogenesis* // *J Leukoc Biol*, 1994. Vol. 55. P. 410-422.
- 12 Parajuli P., Singh S.M. *Alteration in IL-1 and arginase activity of tumor-associated macrophages: a role in the promotion of tumor growth* // *Cancer Lett*, 1996. Vol. 107. P. 249-256.
- 13 Alleva D.G., Burger C.J., Elgert K.D. *Tumor-induced regulation of suppressor macrophage nitric oxide and TNF-alpha production. Role of tumor-derived IL-10, TGF-beta, and prostaglandin E2* // *J Immunol*, 1994. Vol. 153. P. 1674-1686.
- 14 Aoe T., Saito T. *Towards immuno-modulation through the molecular mechanism of lymphocyte activation* // *Nippon Rinsho*, 1995. Vol. 53. P. 2331-2339.
- 15 Aso H. et al. *Impaired NK response of cancer patients to IFN-alpha but not to IL-2: correlation with serum immunosuppressive acidic protein (IAP) and role of suppressor macrophage* // *Microbiology & Immunology*, 1992. Vol. 36. P. 1087-1097.
- 16 Evans R. *Macrophages in syngeneic animal tumours* // *Transplantation*, 1972. Vol. 14. P. 468-73.
- 17 Mantovani A. et al. *The origin and function of tumor-associated macrophages* // *Immunol Today*, 1992. Vol. 13. P. 265-270.
- 18 O'Sullivan C., Lewis C.E. *Tumour-associated leucocytes: friends or foes in breast carcinoma* // *Journal of Pathology*, 1994. Vol. 172. P. 229-235.
- 19 Brunda M.J. et al. *Tumoricidal activity and cytokine secretion by tumor-infiltrating macrophages* // *Int J Cancer*, 1991. Vol. 48. P. 704-708.
- 20 Walter S. et al. *Macrophage infiltration and growth of sarcoma clones expressing different amounts of monocyte chemotactic protein JE* // *Int J Cancer*, 1991. Vol. 49. P. 431-435.
- 21 Pupa S.M. et al. *Macrophage infiltrate and prognosis in c-erbB-2-overexpressing breast carcinomas* // *J. Clin Oncol*, 1996. № 14(8). P. 2406-2407.
- 22 Seljelid R. *Tumour immunology: alternative perspectives* // *Scan J Immunol*, 1997. Vol. 46. P. 437-444.
- 23 Chouaib S. et al. *The host-tumor immune conflict: from immuno-suppression to resistance and destruction* // *Immunol Today*, 1997. Vol. 18. P. 493-497.

24 McCartney-Francis N.L., Wahl S.M. Transforming growth factor beta: a matter of life and death // *J Leukoc Biol*, 1994. Vol. 55. P. 401-409.

25 Micallef M.J. et.al. Interferon-gamma-inducing factor enhances T helper 1 cytokine production by stimulated human T cells: synergism with interleukin-12 for interferon-gamma production // *Eur J. Immunol*, 1996. Vol. 26. P. 1647-1651.

Тұжырым

Тоқ ішектегі ісікпен байланысты макрофагтардың бөлінуі мен морфологиялары зерттелді. Ісіктің ішіндегі макрофагтардың бөлінуі біркелкі еместігі және олардың морфологиясының бір-бірінен өзгешелігі дәлелденді. Ісікті қоршаған стромада макрофагтың ең көп болатындығы көрсетілді. Ісік пен ісік жанындағы макрофаг саны статистика көрсеткіштері бойынша біркелкі ($p=0,63$).

Summary

It has been studied the morphology and distribution of a tumour-associated macrophages in colorectal carcinomas. It is established, that macrophages in a tumour tissue are distributed unevenly and have difference in morphology. The highest density of macrophagal infiltration is marked in stroma which located around a tumour. In a tumour and boundary mucous distinctions in density of macrophagal infiltration are statistically unsignificant ($p=0,63$).

УДК 611.08:612.112.94:611.018.5:611.013.8

Смагулова Г.К., Толмачев В.С., Кудрина Н.О.

ВЛИЯНИЕ МЕТОДОВ КРИОКОНЦЕРВАЦИИ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И СОХРАННОСТЬ РЕЦЕПТОРОВ CD 34, 45 НА МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

(Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ РК)

Исследование посвящено анализу влияния низких температур на жизнеспособность гемопоэтических стволовых клеток для долгосрочного криоконсервирования. Определены наиболее благоприятные условия замораживания гемопоэтических стволовых клеток.

Гемопоэтические стволовые клетки широко используется при лечении онкологических, гематологических, аутоиммунных и эндокринных заболеваний [1,2]. Источником гемопоэтических стволовых клеток служит как костный мозг, так и пуповинная кровь. Основной задачей при использовании гемопоэтических стволовых клеток является обеспечение жизнеспособности и сохранности стволовых клеток, как в количественном, так и в качественном отношении [3,4]. Наиболее ответственным этапом для сохранения жизнеспособности стволовых гемопоэтических клеток при их заготовке является этап замораживания. В настоящее время в мире существует несколько методик фракционирования и криоконсервирования пуповинной крови, однако не все позволяют получить качественный трансплантат после криохранения [4,5]. В связи с этим, проведено изучение эффективности методов замораживания моноклеаров (МНК) при сочетании различных криопротекторных средств.

Цель исследования - изучить влияние криопротекторов на жизнеспособность и сохранность рецепторов CD 34, 45 на МНК и разработка температурного режима для долгосрочного криохранения МНК пуповинной крови.

Материалы и методы

Изучили 60 образцов МНК из пуповинной крови, полученной в РГП «НЦА,ГиП» при физиологических родах. Моноклеарную фракцию выделяли на градиенте фикола р-1,077 г/л. В качестве криопротектора использовали 10%, 5 % раствор диметилсульфоксида (ДМСО) в сочетании с раствором реополиглобулина, а также 10% раствор глицерина в сочетании с 5% раствором глюкозы и аутоывороткой крови. Для охлаждения использовали равное соотношение криопротектора и клеток. Замораживали ступенчато- +4°C; -20°C; -70°C и переносили в жидкую фазу азота -196°C. Размораживали по схеме: -196°C; -70°C; -20°C; водяная баня + 40°C. Для анализа CD 34, 45 в МНК использовали коммерческий набор CD34(Anti-HPCA-2)PE BD Biosciences (USA), CD45 FITS BD Biosciences(USA). Анализировали на проточном цитофлуориметре FacsCalibur с 488 nm аргоновым лазером, против контролей с использованием двухпараметрических гейтированных гистограмм.

Результаты и их обсуждение

Каждый полученный образец суспензии анализировали на гематологическом анализаторе до

замораживания и после размораживания. Результаты сравнительного анализа влияния температуры замораживания на сохранность ЯСК, МНК в таблице 1.

Таблица 1 - Сравнительный анализ влияния температуры замораживания на сохранность ядросодержащих клеток и моноклеаров

	Цельная	До заморозки	После разморозки		
			<u>-20°C</u> % потерь	<u>-70°C</u> % потерь	<u>-196°C</u> % потерь
ЯСК 10 ³ /мл	9,9 ± 1,4	15,5±1,5	<u>1,55±0,2</u> 85,6 %	<u>7,9±2,1*</u> 26,6%	<u>8,2±0,9*</u> 23,8%
МНК 10 ³ /мл	5,8 ± 0,6	6,8±1,6	<u>1,425±0,5</u> 79,4 %	<u>5,7±1,8</u> 16,1%	<u>6,1±0,8*</u> 6,4%

Примечание: * - достоверность по отношению к контролю p<0,05

По результатам видно, что наибольший процент потерь ЯСК и МНК выявлен при замораживании при -20 С. Наименьший разрушительный эффект на содержание ЯСК и МНК в замораживаемой суспензии имеет криоконсервация в жидком азоте(при -196С). Каждый образец выделенной суспензии МНК проанализировали на проточном цитофлуориметре на наличие CD34+, CD45+ клеток до замораживания и после размораживания, результаты в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты исследования CD 34+ , CD 45+ клеток до замораживания и после размораживания

	До заморозки	После разморозки		
		<u>-20°C</u> % потерь	<u>-70°C</u> % потерь	<u>-196°C</u> % потерь
CD 34	2,5±0,4	0,65±0,8** 62	1,1±0,6** 55	1,98±0,2* 21
CD 45	67,7±1,7	35,2±3,2** 48	46,7±2,5* 31	49,4±2,2** 28

Примечание: * достоверность по отношению к контролю p<0,02

** - достоверность по отношению к контролю p<0,05

В результате сравнения полученных данных обнаружено, что количество CD 34+ клеток было выше в пробах, хранившихся в жидком азоте , чем в пробах хранившихся при -20°C и -70°C. Процент потерь также ниже в пробах, хранившихся при -196°C, чем в пробах, хранившихся при -20°C. -70°C. На следующем этапе исследования провели анализ влияния различных криопротекторов на жизнеспособность CD 34, 45 МНК. Результаты исследования в таблице 3.

Таблица 3 - Влияние криопротекторов на жизнеспособность ГСК при криоконсервации

Образец с криопротекторами	CD34+	CD45+
Контроль (до заморозки)	2,5±0,4	67,7±1,7
5%ДМСО/реополиглюкин	1,98±0,2*	46,7±2,5*
10%ДМСО /реополиглюкин	1,8±0,4*	41,5±2,7**
10%ДМСО/ Аутосыыворотка	0,67±0,8*	22,2±0,15*
10%глицерин/ глюкоза	0,39±0,8*	28,3±3,5*
Контроль (без криопротектора)	0,32±0,8*	18,3±3,7***

Примечание: * - достоверность по отношению к контролю p<0,05; ** достоверность по отношению к контролю p<0,01*** достоверность по отношению к контролю p<0,02

Анализируя полученные данные мы пришли к выводу, что использование в качестве криопротектора 5%ДМСО/реополиглюкина соотношение криопротектор/суспензия МНК 1:1 более

благоприятно для сохранения как жизнедеятельности МНК, так и для сохранения гемопоэтических клеток. Таким образом выявлено, что:

- наименьший разрушительный эффект на содержание ЯСК и МНК в замораживаемой суспензии имеет криоконсервация в жидком азоте (при -196°C);
- более благоприятное влияние на сохранность рецепторов CD34, 45 на МНК ПК оказывает криохранение в жидком азоте (при -196°C) ($CD34+ 1,98 \pm 0,2$; $CD45+ 46,7 \pm 2,5$)
- установлен наиболее подходящий криопротектор для криохранения CD34+ МНК 5% ДМСО в сочетании с раствором реополиглюкина.

Литература

- 1 Зайцев А.Ю., Брюховецкий А.С. Нейрогенеторная терапия травматической болезни спинного мозга: роль и перспективы использования трансплантации стволовых клеток // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2007. №1. С.36-44.
- 2 Шевченко Ю.Л. Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии. Наука 2006.
- 3 Владимирская Е.Б., Замараева М.В., Волинец М.В. и др. Пуповинная кровь альтернативный источник стволовых кроветворных клеток для трансплантации // Педиатрия, 1997. №4. С.9-12.
- 4 Гришина В.В. Разработка оптимальных методов криоконсервирования кроветворных клеток пуповинной крови человека для трансплантаций. Автореферат. М. 2006.
- 5 Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. - МИЯ.-М.2003.

Тұжырым

Бұл зерттеулер ұзақ уақыт сақтау үшін қолданылатын өте төмен температураланың гемопоэтикалық дін жасушысының тіршілік ету қабілетіне тигізетін әсерін анықтайды.

Summary

This research was based on analysis of low-temperature influence on hemopoetical stem cells' survival ability during the long run cryokeeping.

The most favourable of hemopoetical stem cells' froze condition was identified.

УДК 576.895.1.

Байтурсинов К.К.
ЗНАЧЕНИЕ ОВЕЦ В ПОДДЕРЖАНИИ СИНАНТРОПНЫХ ОЧАГОВ ТЕНИИДОЗОВ
НА ЮГЕ КАЗАХСТАНА

(Международный казахско-турецкий университет имени А.Ясауи)

Изучена экологическая база распространения эхинококкоза среди овец южного Казахстана с учетом трансформации технологии ведения сельского хозяйства в условиях транзитной экономики. Установлено, что биотический потенциал тениид поддерживают синантропные очаги. Большая плотность популяций овец и их прессинг на обитателей пастбища обуславливают заражение диких животных метастодами.

Известно, что указанные паразиты являются одним из естественных регуляторов численности дикой териофауны. Поэтому в данной работе приведены последние исследования современного состояния основных тениидозов сельскохозяйственных животных южного региона Казахстана, где придерживаются круглогодичной номадной технологии животноводства, с учетом трансформации всей экономики страны в последние 15 лет. Если принять во внимание, что маршруты выпаса домашних животных зачастую совпадают с местами естественного обитания диких копытных, считаем исследование вопроса в этом аспекте актуальным для профилактики эпизоотий вызываемых тениидами заболеваний, в частности, эхинококкоза и ценуроза, дикой фауны.

В настоящее время перемещение центра содержания животных из отгонов в поселки и сельские усадьбы привело концентрации поголовья вокруг населенных пунктов. При такой технологии содержания создаются непредвиденные условия для распространения гельминтозов, в том числе и эхинококкоза. Это обуславливает необходимость изучения эпизоотических особенностей течения заболеваний животных с целью профилактики инфекций и инвазий различной этиологии.

Материал и методы

С целью исследования эпизоотической обстановки по эхинококкозу южного Казахстана в 1998-2003 гг. на убойных пунктах и рынках городов Алматы, Тараз и Туркестан методом неполного гельминтологического вскрытия исследовали паренхиматозные органы сельскохозяйственных животных различных пород, возрастов и пола. При этом обращали внимание на локализацию, физиологическое состояние эхинококковых цист, интенсивность поражения ими органов. Всего в разные сезоны года исследовали 438 коз, 2544 овец, в том числе 1251 животного каракульской, 634 – едильбаевской и 659 - тонкорунной пород из Алматинской, Жамбылской и Южно-Казахстанской областей.

Результаты и их обсуждение

Едильбаевские овцы. Является аборигенной породой, выведенной местным населением, и разводится в течение многих веков. Эта порода в основном выращивается в полупустынной зоне и в пустыне с глинистой и глинисто-щебнистой почвой. Овцы мясо-сального направления, имеют крупные размеры, высокие ноги, приспособлены для использования пастбищ с ксерофильной растительностью во все сезоны года.

Овцы едильбаевской породы были исследованы в количестве 634 животных, из них на юге - 597 и в Центральном Казахстане - 37 овец. Средняя зараженность их эхинококкозом равна 25-28,5%, однако интенсивность инвазии не превышает 30 цист на одно животное (рисунок 1).

При анализе данных установили, что зараженность эхинококком овец этой породы зависит от пола, возраста и упитанности животных. Инвазированность валухов составляла 14,8%, а овцематок – 48,6%. Молодняк высшей упитанности до одного года были заражены на 11,2%, при интенсивности инвазии 3,6 паразита на одно животное. Соответственно, овцы от года до двух лет – 35,5% и 5,1; овцы трех лет и старше – 30,4% и 3,1. В то же время зараженность ларвоцистами молодняка до года средней упитанности составила 48,4% и 17,2; овец от года до двух лет – 62,7% и 10,3; от трех лет и старше – 56,5% и 18,7. У молодых животных преобладали петрифицированные и ацефалоцистные поражения, у животных старше 3 лет фертильные цисты составляли 30-32% от числа обнаруженных пузырей.

Инвазированность едильбаевских овец высшей упитанности в Павлодарской, Карагандинской и Семипалатинской областей составила: молодняка до года - 11,2% и 3,6; молодняка от года до двух лет - 35,5% и 5,1; овец от трех лет и старше - 30,4% и 3,1 паразита на одно животное. У овец средней

упитанности инвазированность цистой паразита достигала, соответственно, 35,5% и 4,3; 56,9% и 10,8; 52,3% и 14,0 эхинококка.

Каракульская порода. Поскольку для получения качественных смушек требуется жаркая погода, овцы каракульской породы в основном разводятся на юге Южно-Казахстанской и Жамбылской областей.

Инвазированность метацестодами эхинококков каракульских овец была несколько выше, чем едильбаевской породы (рисунок 2). Общая зараженность валухов каракульских овец составила 17%, а овцематок – 27,6% при интенсивности 1-42 паразита на одно животное. Степень пораженности цистами паразита зависела от кондиции животных. При этом зараженность разных возрастных групп овец высшей упитанности была ниже и составляла: молодняк до года - 13,7% и 2,3 цисты на животное; молодняк от одного до двух лет - 43,2% и 4,3; овец трех лет и старше - 39,4% и 7,7 паразитов.

Животные средней упитанности показали более высокую степень инвазирования и их зараженность соответственно возрастам достигала: молодняк до года - 62,6% и 5,0; от одного до двух лет - 75,8% и 16,6; овец от трех лет и старше - 70,7% и 18,7 паразитов на одно животное.

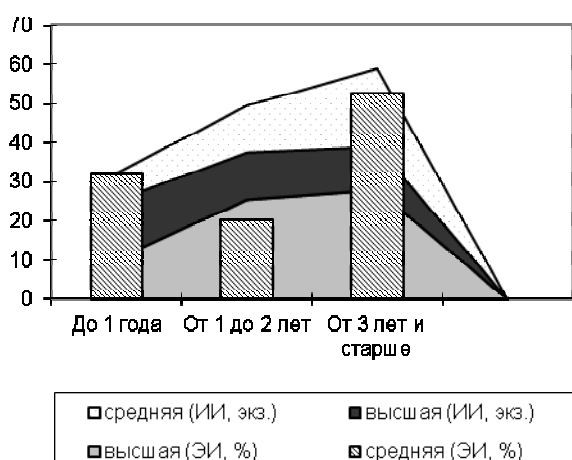


Рисунок 1 - Инвазированность эхинококками едильбаевской породы овец на юге Казахстана (Алматинская, Жамбылская и Южно-Казахстанская области)

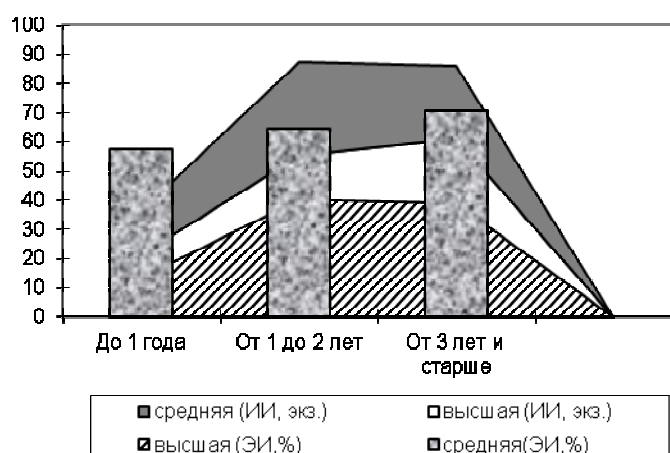


Рисунок 2 - Инвазированность эхинококками каракульских овец на юге Казахстана

Мериносные породы. Мериносные тонкорунные овцы в Казахстане в основном разводятся в северной, восточной и горной части юга страны, где имеется многоснежный, холодный и умеренный климат. Животные пасутся в летне-осенний сезон, а в зимнее и весеннее время находятся в стойловом содержании.

В Алматинской области экстенсивность инвазированности эхинококками тонкорунных овец со средней упитанностью составляла 33,9%, при интенсивности 7,1 экземпляр на одного животного (рисунок 3). Показатели зараженности метацестодами ягнят до года составляла 24,6% и 6,8 цист на одно животное, молодняк от одного до двух лет - 33,1% и 2,6; овец трех лет и старше – 38,4% и 7,5; а на юге Казахстана, в целом, – 34,1% и 5,6 метацестод.

Зараженность овец эхинококками в постреформенный период. Данные за 1998-2001 гг. в основном фиксировали положение по эхинококкозу, которое существовало в дореформенный период. Общественное животноводство в Казахстане существовало вплоть до 1995-1996 годов, и в последующие четыре года часть поступавших на рынки сбыта животных составлял мелкий рогатый скот приватизированных колхозов и совхозов. Поэтому в переходной период после распада прежней системы хозяйствования картина заболеваемости животных эхинококкозом все еще сохраняла оттенки, которые были характерны последним годам существования дореформенного животноводства.

Наши исследования на бойнях г.Алматы и Туркестана в 2002-2003 гг. показали, что общая зараженность овец эхинококкозом на юге в последние годы значительно снизилась (рисунок 4).

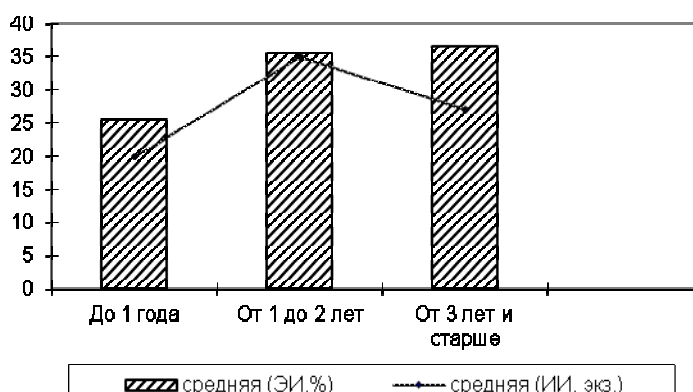


Рисунок 3 - Инвазированность эхинококками мериносовых овец на юге Казахстана

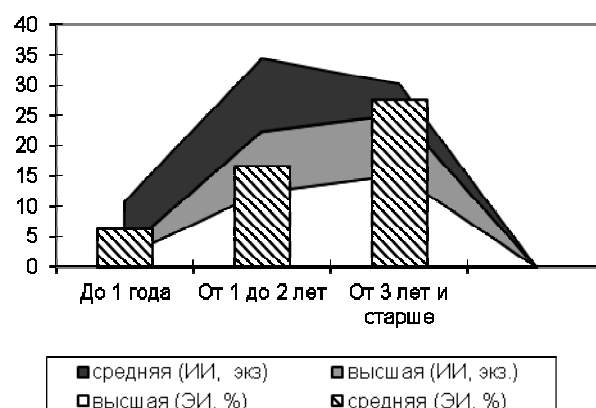


Рисунок 4 - Инвазированность эхинококками овец на юге Казахстана (по данным за 2002-2003 гг.)

В этом определенную роль сыграли некоторые изменения в технологии содержания и кормления животных в фермерских и семейных хозяйствах и экономическая оценка их собственных позиции. Крестьяне осознали, что личные животные являются основным источником дохода, поэтому в настоящее время животных предпочитают продавать в молодом возрасте с высокой упитанностью. Как известно эта группа животных имеют высокий фон иммунных барьеров и цисты эхинококка в организме часто погибают или развиваются ацефалоцистные формы. Однако, маточное поголовье 3-7 летних животных, как наиболее плодовитая группа превалирует в хозяйстве. Определенная часть их погибают во время окота и от болезней или употребляются для нужд семьи. Возможно, они являются основными источниками инфекции собак, о чем свидетельствуют высокая зараженность чабанских (в среднем 24,3%) и поселковых (до 13%) собак.

Эхинококкоз коз. Эти животные всегда пасутся совместно с овцами. Однако в отарах они малочисленны и используются как предводители во время пастбы и перегона животных, поэтому большого хозяйственного значения не имеют. Ранее в Казахстане специального гельминтологического исследования коз на эхинококкоз не проводили.

При выполнении настоящей работы на бойнях г.Алматы, Туркестана и Шымкента исследовали 438 коз. Эхинококки обнаружили у 18 (4,1%) животных. Интенсивность инвазии составляла 3-9 недоразвитых и погибших цист (рисунок 5), все эхинококковые поражения имели только петрифицированные и ацефалоцистные формы. Плодоносных пузырей у них нашли.

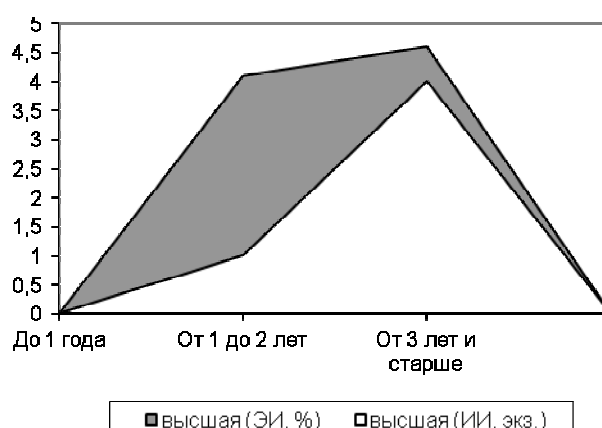


Рисунок 5 - Инвазированность коз эхинококками на юге Казахстана

Козы значительно меньше заражены эхинококком, чем овцы (всего 4%), при интенсивности 1-2 паразита. У коз высшей упитанности в возрасте до года эхинококки не обнаружены, у молодняка от одного года до двух лет ЭИ составляла 4,0%, трех лет и старше - 4,6%.

Заключение

Результаты наших исследований показали, что эхинококкоз широко распространен среди сельскохозяйственных животных на территории Казахстана.

Из шести видов домашних животных, разводимых в Казахстане, наиболее высокую зараженность эхинококкозом отмечается у овец и верблюдов. Видимо, *E. granulosus* более адаптирован к организму этих животных, поскольку значительно большее количество цист паразита (35-52% у овец и 27% у верблюдов) развиваются с формированием протосколексов. В то же время эхинококки бывают плодоносными только у 10,7-14% зараженного крупного рогатого скота и у 4,7% инвазированных свиней. У коз зараженность составляет 3-5%, плодоносные цисты у них фактически не развиваются.

Основываясь на изложенных фактах, предполагаем, что овцы играют основную роль в циркуляции *E. granulosus* в Казахстане. Это обусловлено близостью собак, повсеместно сопровождающих отары, и частый убой овец на местах в личных целях. Высокая инвазированность верблюдов, связана с тем, что они разделяют одни и те же водопои и совместные пастбища с овцами. В то же время значительная зараженность крупного рогатого скота мясного направления, прежде всего, обусловлено распространенной практикой содержания со скотом личных овец, принадлежащих работникам и охраной их собаками.

Зависимость зараженности метацестодами от породы овец не имеет четкой корреляции. Однако эхинококкоз у каракульской породы овец регистрируется чаще, чем у других пород. Возможно, в этом значительную роль играет предрасполагающие экологические факторы. Для выращивания каракульских овец во все сезоны года используются пустынные пастбища, где мало открытых источников водопоя, поэтому происходит значительная концентрация животных возле немногочисленных колодцев и открытых источников.

Сравнение степени зараженности эхинококкозом животных разных возрастов свидетельствует, о наличии явной зависимости экстенсивности инфекции от возраста животных. Судя по литературным и собственным данным, иммунное состояние в отношении эхинококкоза меняется с увеличением возраста овец. У молодых животных зараженность эхинококкозом наименьшая, у особей старше 4-5 лет соответственно сильно возрастает экстенсивность и интенсивность поражения паразитом. Такая же закономерность наблюдается относительно физиологического состояния развития паразита. У молодых животных до 1-2 года превалируют погибшие (петрифицированные) и ацефолоцистные формы цист. Плодоносные пузыри появляются у 2-3 летних животных, и с возрастом фертильные цисты превалирует над другими формами. Общий анализ зараженности показывает, что плодоносные цисты у однолетних не регистрируются, у двухлетних они составляют - 2-3,5%, у трехлетних достигает - 8-12%, у четырехлетних - 15-19,4%, а у овец старше четырех лет цефалоцисты составляют 27-52% от общего количества пузырей.

С возрастом увеличивается интенсивность инвазированности и размеры эхинококковых цист. Так, у молодняка до двух лет количество цист в печени и легких, в среднем, достигает 15-22 экземпляров, а у взрослых старше четырех лет доходит до 134 пузыря на одно животное. Размеры метацестод у овец достигают 3-12 см, у крупного рогатого скота - 15-17 см в диаметре. Видимо, увеличение экстенсивности и интенсивности поражений эхинококкозом и возрастание процента плодоносных цист по мере увеличения возраста животных, более всего связано с ежегодной суперинвазией животных, когда нарушаются толерантные пределы к инвазии эхинококками.

В значительной мере развитие эхинококковых цист зависит от физиологического состояния хозяев. У молодых животных, имеющих высокую упитанность, чаще развиваются цисты без протосколексов, или же метацестоды резорбируются с последующей гибелью паразита и петрификацией поражения. Утверждают, что согласно литературным данным, на восприимчивость молодых ягнят влияет иммунный фон овцематок, если они заражены эхинококками. В частности, выявлена низкая приживаемость личинок *E. granulosus* (на 26,1%) в организме ягнят, полученных от больных эхинококкозом овцематок [1].

Сравнение степени зараженности эхинококками овцематок и самцов показали, что показатели инвазирования овцематок в два раза превышают таковые валухов. На наш взгляд, это различие обусловлено предрасполагающими экологическим факторами и физиологическим состоянием животных. Как известно, в весеннее время овцематок с молодыми ягнятами пасут возле кошары. Поскольку трава поблизости кошар постоянно стравливается, овцы вынуждены захватывать побеги растений ближе к корню, где они более загрязнены фекалиями собак. По определению загрязненности почвы возле кошар показали, что наиболее интенсивно загрязнены прикошарные территории в радиусе до 350-450 м. Рост степени инвазии овцематок с возрастом, по-видимому, связан с ежегодным повторением этой обстановки, когда происходит суперинвазия животных. Более высокая инвазия овцематок зависит также от физиологического состояния животных во время беременности, когда упитанность и резистентность животных снижается.

Литературные сведения и наши данные [2, 3, 4, 5], полученные за последние годы, свидетельствуют, что животные высшей упитанности заражены эхинококками в 3-5 раз меньше, чем со средней упитанностью. Это обстоятельство можно расценить двояко: возможно, животные высокой упитанности редко заражаются эхинококками, или паразит оказывает сильное патологическое воздействие на зараженных животных, вследствие чего их упитанность снижается. Несомненно, *E. granulosus* сильно подавляет иммунное состояние и влияет на резистентность организма к инфекциям.

Таким образом, это заболевание продолжает оставаться одним из важных факторов, снижающих эффективность производства продукции животноводства Казахстана.

Таким образом, в Казахстане мощный биотический потенциал и синантропные очаги тениид, особенно, эхинококков и мультицепсов, поддерживаются сельскохозяйственными животными - основными резервентами этих паразитов, которые выполняют также роль естественных регуляторов численности популяций диких копытных в пределах совместного выпаса их с домашними животными. Поэтому одним из ключевых моментов регулирования антропогенного воздействия на естественную среду обитания диких животных служит грамотная организация профилактических мероприятий и контролирование эпизоотических показателей при эхинококкозе и ценурозе сельскохозяйственных животных.

Литература

- 1 Рамазанов В.Т., Кереев Я.М. К изучению экономического ущерба, патологии и иммунитета при экспериментальном эхинококкозе ягнят // Вестник с.-х. науки Казахстана. - Алматы, 1976. - № 12. - С.78-82.
- 2 Шайкенов Б.Ш., Торгерсон П.Р., Рысмухамбетова А.Т., Байтурсинов К.К. Социально-экономические факторы и изменения в эпидемиологии эхинококкоза в Казахстане // Сборник тезисов региональной научно-практической конференции: «Гельминтозы у людей». - Шымкент, 2003. - С.18-23.
- 3 Байтурсинов К.К., Шайкенов Б.Ш., Абдыбекова А.М. Распространение эхинококкоза среди сельскохозяйственных животных в Казахстане // Тезисы докладов Международного семинара: «Эхинококкозы: понимание эпидемиологии и изменений её динамики, рекомендации по борьбе и профилактике заболеваний в Центральной и Северной Азии». - Шолпан-Ата, 2004. - С.26-28.
- 4 Baitursinov K.K., Shaikenov B.S., Abdybekova A.M. Distribution of *Echinococcus* amongst agricultural animals in Kazakhstan // *Echinococcus in Central Asia; problems and solutions*. - Zurich-Almaty, 2004. - P.101-118.
- 5 Байтурсинов К.К., Шайкенов Б.Ш., Абдыбекова А.М. Динамика инвазии эхинококкозом сельскохозяйственных животных в Казахстане // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. - 2005. - № 2. - С.48-54.

Тұжырым

Транзиттік экономика кезеңінде ауыл шаруашылық технологиясының өзгеруі ескеріліп, оңтүстік Қазақстандағы қойлар арасында эхинококкоздың таралуының экологиялық негіздері жағдайы зерттелінді. Тениидтердің биотикалық потенциалын синантроптық ошақтар ұстап тұратыны көрсетілді. Үй малдары популяциялары тығыздығының үлкен мөлшері және олардың ортақ жайылымдарға прессингі жабайы жануарлардың метастодоалармен залалдануына себеп болады.

Summary

There was studied the ecological base of spreading of farm animals' echinococcosis in the southern Kazakhstan recording the transformation of agriculture technologies in conditions of transition economics. There was established the biotic potention of taeniid were supported by sinanthropic sources. The high density of population of domestic animals and its pressing to the common pastures were leading to infection of wild animals by metacestodes.

УДК 576.895.1. + 591.613.636

Байтурсинов К.К.

КРАТКИЕ ДАННЫЕ ПО БИОЛОГИИ И ЗАРАЖЕННОСТИ ГЕЛЬМИНТАМИ САЙГАКА (*Saiga tatarica* L., 1766) В КАЗАХСТАНЕ

(Международный казахско-турецкий университет имени А.Ясауи)

Приведен некоторые особенности биологии, экологии и зараженности гельминтами сайги во всех трех популяциях в Казахстане.

Биологические особенности *S.tatarica* Linn. Сайгак обладает способностью быстро приспосабливаться к изменяющимся условиям внешней среды, что определяет возможность успешного обитания животного в аридных зонах. Он питается такими жесткими растениями, которые не едят овцы и козы, подолгу может обходиться без воды.

Телосложение животного напоминает домашнюю овцу. Передняя часть головы горбоноса и вздута. Развитие преддверья, мощная кровеносная система дыхательного отдела служат приспособлением для быстрого бега по равниннам. Благодаря густой и длинной шерсти с низкой теплопроводностью и толстого слоя подкожного жира, сайгак хорошо переносит низкие температуры. Жировой запас служит и в случаях вынужденных голодовок.

Окраска сайгака покровительственная и меняется в связи с сезоном года. Копыта крупные, широкие, с хорошо развитым пяточным мякишем. Сайгаки в глубокоснежные зимы тебенюют, т.е. раскапывают снег копытами.

Формирование зубной системы сайгака завершается к концу второго года жизни. Животное потребляет большое количество грубостебlistого корма, и у 5-8 летнего сайгака уже сменяются все верхние предкоренные зубы. Предельный возраст - 9-10 лет. Взрослые самцы живут до 6, самки – до 10 лет [1].

К популяционным особенностям относятся такие биологические адаптации, как полигамия, плодовитость, номадизм, высокая стадность, сезонные миграции и высокая численность [2].

При стихийных бедствиях способность к миграции имеет большое значение в сохранении значительной части популяции сайгаков. Так, в зиму 1969 года, когда в Бетпакдале выпал глубокий снег высотой до 100 см, стояли продолжительные бураны и морозы до -40°C - -50°C , вся популяция сайгаков мигрировала в западном направлении, сосредоточилась на отдаленных пастбищах Кызылординской области и благополучно перезимовала.

Стадность является приспособлением к пастбищам, где животные постоянно должны перемещаться в поисках кормовых угодий, естественная урожайность которых низкая. Сайгаки уходят от опасности всем стадом, развивая большую скорость бега до 80 км в час, и это позволяет уходить от преследования, в основном от волков. Способность к быстрому бегу имеет адаптивное значение и способствует сохранению вида.

Для сайгака свойственна ранняя зрелость. Уже в годовалом возрасте самка приносит сайгачонка, а в двухгодичном и старше – двойню и редко – тройню.

Одной из популяционных особенностей сайгаков является полигамность. В декабре у сайгаков начинается гон, их стада распадаются на мелкие табунки, в каждом из которых рогач-вожак и до одного-трех десятков самок. Половой отбор способствует рождению потомства от сильных и конституционно развитых самцов. Массовое спаривание происходит с середины декабря и длится 7-10 дней. Затем «гаремы» отделяются от самцов, объединяются в большие стада и совершают весеннюю миграцию отдельно и позднее самцов. Беременность самок длится примерно 5 месяцев.

Закономерные сезонные миграции сайгаков составляют одну из экологических особенностей их адаптаций. У животных отчетливо выражена сезонная размещенность по природным зонам. Летом они находятся в степной зоне, где прохладно, достаточно воды и корма. Осенью они переходят в полупустыню, а зимой в пустыню, где много кустарниковых растений, которые полностью не закрываются снегом и являются единственно доступным кормом и укрытием во время продолжительных буранов. В пустыне с более ранним наступлением весны сайгаки обеспечены зеленым кормом, благодаря эфемерам. Летом в пустыне жарко, поэтому по мере наступления весны сайгаки продвигаются вслед тающему снегу севернее, в полупустыню. В этот период они обеспечены водой от таяния снега и дождей. Кочевки весной и в начале лета носят регулярный характер по времени и направлению. Миграции носят характер постоянного перемещения к северу и отличаются перемещениями больших скоплений животных и их стремительностью. Обычно в этот период стада по пути соединяются и образуют группировки, насчитывающие десятки тысяч голов.

В период миграции стада сайгаков пасутся в основном на тех же пастбищах, где и овцы. Однако сайгаки постоянно сменяют участки пастбищ.

В каждый год в мае в переходной зоне между полупустыней и сухой степью у них появляется потомство. В этот период тепло и обилие зеленого корма, что благоприятно для выращивания потомства. Самки на пути миграции выбирают места лежки, где и появляется новое поколение. Места рождения молодняка по годам не совпадают, не постоянны, зависят от метеорологических условий весны и сопряжены с этой вегетацией трав. По нашим наблюдениям, места расплода сайгаков в 1994 году были на 150-200 км севернее, чем в 1993 году, когда зима на юге была многоснежной и продолжительной, а срок начала миграции поздним.

Особенности водопойно-пастбищного режима. Проблема получения воды сайгаками решается главным образом, переходом на более сочные для данного сезона корма [3]. Весной сайгаки перемещаются на пастбища, влажность кормов которых не менее 65-75%. В конце весны становится необходимым посещение водоемов. В зависимости от сезона года изменяется суточный цикл поведения и использования пастбищ. Весной они скучиваются на растения высоко, часто только их верхушки. Животные берут растения на 1-4 м одно от другого и быстро передвигаются по пастбищу. Летом сайгаки выбирают наиболее сочную растительность, обычно по понижениям, и скучиваются на растения низко от земли. Еще с осени сайгаки начинают выгрызать лишайники. На проталинах в начале весны, где часто зеленеют злаки, они скучиваются до самой земли.

Обычно летом активность животных двухфазная: утренняя и вечерняя. В этот период кормежка сайгаков совпадает с периодом максимального нахождения на поверхности пастбищ промежуточных хозяев мониезий.

Материал и методы

Сбор гельминтологического материала от сайгаков в наших исследованиях проводили с 1989 г. по 1994 г. При этом были изучены 353 сайгака разного возраста, в том числе 136 животных исследовали методом полного гельминтологического вскрытия: в бетпакдалинско-арысской группировке - 72, уральской - 33 и устьюртской - 31 особи.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования у сайгаков установили 34 вида гельминтов: в бетпакдалинско-арысской группировке - 29, устьюртской - 24 и уральской - 16 видов (табл.). Один вид из обнаруженных гельминтов принадлежал к классу Trematoda, пять видов - Cestoda, а остальные гельминты были нематодами. В цикле развития девяти видов имелись промежуточные хозяева, остальные 25 видов относились к геогельминтам. Такие особенности биоразнообразия гельминтофауны сайгаков объясняется тем, что формирование ее происходило в условиях аридной экологической среды, где большие шансы для выживания имели паразиты с прямым циклом развития (в частности, нематоды разных таксономических рангов), имевшие плотные скорлупы яиц, способные выдерживать достаточно жесткие температурно-влажностные режимы пустынно-полупустынных пастбищ. Учитывая литературные данные [4, 5], настоящие исследования дополнили список гельминтов сайгака видами: *D.lanceatum*, *A.arctica*, *S.digitata*, *S.labiato-papillosa*, *Sk.lyrata*, *Trichostrongylus axei*, *T.skrjabini* и *Oesophagostomum sp.* (только самки), причем первые пять видов зарегистрированы у хозяина впервые и все восемь видов - в Казахстане.

Наши исследования и литературные данные позволяют подытожить гельминтофаунистические исследования до настоящего момента разных популяций сайгака на территории СНГ. В частности, в Казахстане у сайгаков барсакельмеской группировки были определены 15 видов гельминтов (два - цестод, 13 - нематод), бетпакдалинско-арысской - 42 (один - трематод, 8 - цестод, 33 - нематод), устьюртской - 25 (четыре - цестод, 21 - нематод), уральской - 28 (четыре - цестод, 24 - нематод). У животных, популяция которых располагается на территории Калмыкии, наблюдали 25 видов и Дагестана - 42 вида гельминтов. Таким образом, на настоящий момент перечень видового разнообразия паразитических червей в пределах исторического ареала сайгака достигает 64 наименований.

Почти все виды гельминтов, которых определили у сайгаков в Казахстане, паразитируют у овец и других домашних жвачных животных. Этот факт свидетельствует возможности «обмена» гельминтами между сайгаками и овцами, т.к. они пользуются общими пастбищами. Однако показатели зараженности отдельными группами гельминтов сайгаков и овец разная.

Наиболее распространенными видами у сайгаков были авителлины, мониезии, нематоды, маршаллагии и скрябинемы. Гельминты этих же родов паразитируют и у овец. Зараженность сайгаков трихостронгилюсами, остертагиями и гемонхами как по экстенсивности, так и по интенсивности инвазии, была относительно низкой и меньшей, чем у овец. Следует отметить, что, вопреки бытующему мнению о слабой инвазированности личинками тениид, достаточная доля сайгаков были инвазированы цистами эхинококков и цистицерками тений. Так, экстенсивность инвазии сайгаков *T.hydatigena, larvae*; в бетпакдалинско-арысской группировке составляла, в среднем, 19,2%, уральской - 12,5% и в устьюртской 18,2%; *E.granulosus, larvae*; соответственно 14,2%, 6,8 и 12,5%.

У сайгаков не находили трематод (фасциол) и нематод легких (диктиокаул и протостронгил), которые были зарегистрированы у овец в зоне обитания сайгаков. Можно предполагать, что сайгаки, будучи более подвижными и менее «привязанными» к определенной территории и местам водопоя, чем овцы, находятся меньше времени в местах заражения овец этими видами гельминтов.

Таблица - Гельминты сайгаков, зарегистрированные нами в Казахстане

№	Виды гельминтов	По казахстанской популяции сайгака (n=136)		в т.ч. по группировкам					
				Бетпакдалинск о-арысская (n=72)		устуртская (n=33)		уральская (n=31)	
		ЭИ, % (M±m)	ИИ, экз. (M±m)	ЭИ, %	ИИ, экз. (M±m)	ЭИ, %	ИИ, экз. (M±m)	ЭИ, %	ИИ, экз. (M±m)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	<i>Dicrocoelium lanceatum</i> Stiles et Hassall, 1896	0,7	4*	1,3	4*	-	-	-	-
2	<i>Taenia hydatigena</i> (Pallas, 1766), larvae	16,8±1,5	5±1	19,4	4*	12,5	10±1	18,2	5±2
3	<i>Multiceps multiceps</i> (Leske, 1780), larvae	0,7	1*	-	-	3,2	1*	-	-
4	<i>Echinococcus granulosus</i> (Batsch, 1786), larvae	11,7±2,0	5±1	15,2	5±1	6,0	7*	12,9	4±2
5	<i>Avitellina centripunctata</i> (Rivolta, 1874) Gough, 1911	23,9±4,1	10±1	19,4	12±1	18,1	14±2	35,4	6±1
6	<i>A.arctica</i> Kolmakov, 1938	0,7	2*	1,3	2*	-	-	-	-
7	<i>Parabronema skrjabini</i> (Rassowska, 1924)	2,9	8*	5,5	8*	-	-	-	-
8	<i>Setaria digitata</i> (Linstow, 1906)	0,7	1*	-	-	3,0	1*	-	-
9	<i>S.labiato-papillosa</i> (Alessandrini, 1838)	0,7	1*	1,3	1*	-	-	-	-
10	<i>Skrjabinema ovis</i> (Skrjabin, 1915) Werestschagin, 1926	95,5±0,9	1240±1239	97,2	1497±238	93,9	1432±238	93,5	415±49
11	<i>Chabertia ovina</i> (Fabricius, 1788)	7,3	129±69	-	-	3,0	522*	29,0	129±69
12	<i>Oesophagostomum sp.</i> (только самки)	0,7	12*	-	-	3,0	12*	-	-
13	<i>Trichostrongylus axei</i> (Cobbold, 1879) Railliet et Henry, 1909	2,2	21±18	2,7	4-52*	3,0	8*	-	-
14	<i>T.colubriformis</i> (Giles, 1892) Ransom, 1911	2,9	219±94	1,3	168*	-	-	9,6	108-380*
15	<i>T.probolurus</i> (Railliet, 1896) Looss, 1905	21,3	278±40	22,2	279±38	15,1	86±2	25,8	399±112
16	<i>T.skrjabini</i> Kalantarjan, 1928	11,6±2,7	62 ±39	5,5	59±39	18,1	70±25	12,9	59±14
17	<i>Ostertagia ostertagi</i> (Stiles, 1892) Ransom, 1907	2,2	45±38	2,7	4-112*	3,0	20*	-	-
18	<i>Ostertiagiella occidentalis</i> (Ransom, 1907) Andreeva, 1957	3,6	13±5	-	-	15,1	13±5	-	-
19	<i>O.circumcincta</i> (Stadelmann, 1894)	1,4	10-152*	2,7	10-152*	-	-	-	-

	Andreeva, 1957								
20	<i>O. orloffii</i> (Sankin, 1930) Andreeva, 1957	5,1	43±17	6,9	40±18	-	-	6,4	8-92*
21	<i>O. trifida</i> (Guille, Marotel et Panisset, 1911) Andreeva, 1957	5,1	143±52	9,7	143±52	-	-	-	-
22	<i>O. trifurcata</i> (Ransom, 1907) Andreeva, 1957	2,2	11±6	4,1	2-36*	3,0	4*	3,2	8*
23	<i>Skrjabinagia lyrata</i> (Sjoberg, 1926) Andreeva, 1957	1,4	12-808*	2,7	12-808*	-	-	-	-
24	<i>Marshallagia marshalli</i> (Ransom, 1907) Orloff, 1933	67,2±4, 4	306±26	56,9	432 ±62	72,7	199±17	74,1	193±19
25	<i>M. mongolica</i> Schumakovitsch, 1938	12,5	159±29	19,4	178±31	9,0	68±44	-	-
26	<i>Haemonchus contortus</i> (Rudolphi, 1803) Cobb., 1898	8,3±1,8	145±76	4,1	23±12	9,0	109±88	12,9	400±26 4
27	<i>Nematodirus abnormalis</i> May, 1920	1,47	4-12*	1,3	12*	3,0	4*	-	-
28	<i>N. dogieli</i> Sokolova, 1948	2,2	117±124	2,7	12-332*	3,0	8*	-	-
29	<i>N. gazellae</i> Sokolova, 1948	62,6±9, 1	375±1	83,3	438±63	51,5	226±91	48,4	291±79
30	<i>N. mauritanicus</i> Maupas et Seurat, 1912	2,9	45±35	4,2	8-124*	-	-	3,2	4*
31	<i>N. oiratianus</i> Rajevskaja, 1929	10,0±1, 6	163±35	13,8	224±30	6,0	24-52*	9,6	43±18
32	<i>N. spathiger</i> (Railliet, 1896) Railliet et Henry, 1909	2,2	49±26	2,7	45-92*	3,0	10*	-	-
33	<i>Nematodirella</i> <i>longissimespiculata</i> (Romanovitsch, 1915) Skrjabin et Schikhobalova, 1952	2,2	107±45	2,7	52-185*	3,0	85*	-	-
34	<i>Trichocephalus skrjabini</i> (Baskakov, 1924)	25,0±1, 2	23±3	27,2	14±1	24,2	48±19	22,5	22±3
Всего видов гельминтов:		34	29	24	16				

Примечание: * - абсолютное значение

Таким образом, сайгаки в Казахстане в настоящее время не могут быть резервентами фасциолеза, дикроцелиоза, эуритрематоза, ценуроза и диктиокаулеза в природе. Эти инвазии в Казахстане характерны для домашних жвачных животных, главным образом, для овец. Можно предполагать, что в течение пастбищного сезона действительная зараженность сайгаков нематодами гораздо выше установленной по результатам исследований, поскольку систематическое исследование сайгаков разных половозрастных групп в течение всех месяцев года было невозможным технически. Вскрытия же животных проводили только в сезоны массового отстрела, когда пик инвазии тем или иным видом гельминтов приходился, вероятнее всего, на другой сезон года.

Овцы в местах обитания также заражены авителлинами, но в меньшей степени, чем сайгаки. Мониезии и тизаниезии встречаются у овец чаще.

Таким образом, авителлинами, мониезиями, тизаниезиями, маршаллагиями, нематодами, скрябинемами и некоторыми другими гельминтами сайгаки и овцы могут «обмениваться», и тем самым сайгаки могут являться резервентами возбудителей этих гельминтозов в природе. Упомянутые гельминты могут получить широкое распространение у сельскохозяйственных животных на вновь

осваемых под животноводство территориях Казахстана. Так, овцы, введенные в Бетпакдалу, приобрели здесь новых паразитов (*S. ovis*, *N. archari*, *N. dogieli* и *N. gazellae*), позаимствовав их от сайгака и джейрана.

Наибольшее отрицательное значение следует ожидать особенно от обмена авителлинами между сайгаками и овцами. Зараженность авителлинами овец в Тургайских степях была в меньшей степени, чем сайгаков. Установлено, что в этом случае авителлиноз стал регистрироваться у овец в связи с увеличением численности и миграциями сайгаков на север. В этих условиях знание закономерностей развития эпизоотии авителлиноза среди сайгаков способствовало усовершенствованию мер борьбы с этой инвазией среди овец.

Сравнение гельминтофауны сайгака с таковыми домашних животных показывает, что коэффициент сходства достигает 100%. Однако степень зараженности животных разными видами паразитических червей неодинакова. Это зависит от ландшафтной приуроченности гельминтов, их специфичности к разным видам хозяев, относительной плотности поголовья животных и длительности использования ими пастбищ. Ряд видов паразитов: *M. marshalli*, *M. mongolica*, *N. dogieli*, *N. gazellae* и *A. centripunctata* более специфичны паразиты сайгаков. Степень инвазии этими гельминтами выше у сайгака, чем у домашних животных.

В то время остальные группы паразитических червей чаще регистрируются у домашних животных, в частности, у овец и коз, при высокой интенсивности инвазии. Фауна паразитических червей домашних животных богата и разнообразна. Например, в срединном регионе, в котором обитает бетпакдалиноско-арысская группировка сайгака, у сельскохозяйственных животных отметили 36 видов гельминтов, в Костанайской области - 46 видов, Торгайской - 55, Актобинской - 50 и Кызылординской - 62 вида [6].

Заслуживает внимания факт значительного заражения сайгака скрябинемами (*Skrjabinema ovis*). Вид *S. ovis* на территории СНГ распространен широко и свойствен разным видам жвачных. Это обычный паразит домашних овец. Так, в разных регионах страны зараженными были 22,2-62,4% их поголовья, козы были заражены на 12%. Результаты наших исследований на зараженность сайгаков скрябинемами превысили все известные до сего времени показатели инвазии. Экстенсивность инвазии составляет почти 100% (50 из 51 вскрытого животного), а интенсивность инвазии достигает 14160 паразитов (Шалкарский район) при среднем значении 1710 нематод.

Несмотря на невысокую зараженность сайгака трихоцефалами (ЭИ 37,6% при средней ИИ 15 экз.), это вызывает определенный интерес исследователей. Хотя яйца трихоцефал имеют многослойную оболочку, они являются чувствительными к высушиванию и воздействию прямых солнечных лучей. Следует полагать, что модельными биотопами для яиц этих нематод являются пастбища с густой растительностью с достаточным обеспечением поверхностной влагой. Поэтому заражение сайгака трихоцефалами, возможно, происходит в степи, где в силу структурной особенности яиц нематоды, инвазия сохраняется более длительное время. Основное значение в передаче инвазии является постоянный контакт антилопы с овцами. В кругообороте данной инвазии сайгак, кажется, не играет самостоятельной роли.

По-видимому, отдельные виды гельминтов более приспособлены к паразитированию у сайгаков. Возможно, они являются первичными хозяевами этих паразитов, от которых последние вторично перешли на других хозяев. Интенсивность заражения ими сельскохозяйственных животных невысокая, поэтому, очевидно, не имеет большого практического значения, кроме авителлин, которые широко распространены у овец южного Казахстана. В отношении остальных видов более вероятным является предположение о преимущественных движениях гельминтов в обратном направлении, от сельскохозяйственных животных к сайгакам. Такое предположение вполне согласуется с высказанным в литературе мнением, согласно которому имеется больше шансов заражения диких животных от сельскохозяйственных, чем наоборот [7, 8].

Высокая идентичность фауны гельминтов сайгака и овец свидетельствует о многовековом контакте в местах обитания животных, разных по своему происхождению.

Таким образом, установлено, что сайгаки как животные, мигрирующие в широком диапазоне, участвуют в переносе инвазии в пространстве, как от песчаных пустынь в полупустыню и степь (весной и летом), так и в обратном направлении (осенью). Общность паразитов сайгака и домашних овец 50-100%. Однако, часть этих паразитов более специфична для сайгака. К их числу можно включить *A. centripunctata*, *S. ovis* и *N. gazellae*. Несомненно, сайга играет важную роль в распространении и заражении ими домашних животных.

Напротив, овцы более интенсивно инвазированы тениидами *E. granulosus* и *T. hydatigena*. В распространении этих паразитов активную роль играют собаки. Экстенсивность инвазированности

сайгаков цистами этих цестод в период исследований были достаточно высокими.

Третью группу паразитов составляют нематоды, инвазионные элементы которых адаптированы к жизни в сухих ландшафтах. Это нематоды родов *Marshallagia* и *Nematodirus*. В циркуляции этих паразитов в природе в одинаковой степени участвуют обе группы животных. Но в зависимости от численности популяций, плотности нагрузки на пастбища диких и домашних копытных роль отдельной группы в распространении указанных нематод может сильно варьировать. В последние годы значительно сократилось количество домашних животных и снизилась численность сайгака. Вследствие теплых зим и прекращения перегона домашних овец в Бетпак-Далу эти группы животных в настоящее время тесно не контактируют. Поэтому популяционное давление паразитов друг на друга (например, сайгака на овец) невелика.

Литература

- 1 Слудский А.А. Сайгаки в степях Казахстана // *Наука и жизнь*. – 1977. – № 4. – С.71-74.
- 2 Шварц С.С. Популяционная экология–теоретическая основа охотничьего хозяйства // *Охота и охотничье хозяйство*. – 1969. – №4. – С.16-17.
- 3 Банников А.Г., Жирнов Л.В., Лебедева Л.С., Фандеев А.А. Биология сайгака. – Москва, 1961. – 335 с.
- 4 Петров В.С. Гельминты сайгаков и их значение в эпизоотологии гельминтами овец: Автореф. ... канд. вет. наук: 03.00.19. – Москва: ВИГИС, 1985. – 24 с.
- 5 Соколова И.Б., Боев С.Н. Материалы по гельминтофауне диких жвачных Казахстана // *Изв. АН КазССР. – Сер. Паразитологическая*. – Алма-Ата, 1950. – Вып.8. – С.226-233.
- 6 Прядко Э.И., Осипов П.П., Байтурсинов К.К. Гельминтологическая ситуация в животноводческих хозяйствах Казахского участка Среднего региона (в связи с проблемой переброски речного стока) // *В сб.: Гельминты человека, животных и растений. /Институт зоологии АН Казахской ССР. – Алма-Ата, 1987. – С.201-226. – Деп. в ВИНТИ № 5593-В87.*
- 7 Григорян Г.А. К изучению фауны паразитических червей диких жвачных Армении и их роль в распространении гельминтов среди домашних овец и коз // *Тр. ГЕЛАН АН СССР. – Ереван, 1951. – Т. 5. – С.308-310.*
- 8 Байтурсинов К.К. Гельминты сайгака в Казахстане // *Вестник ПГУ им. С.Торайгырова. Сер. химико-биологическая. – 2005. – № 2. – С.67-81.*

Тұжырым

Автор мақалада Қазақстандағы ақбөкендердің үш популяциясындағы биологиясының және экологиясының кейбір ерекшеліктері және гельминтермен зарарлануы жайында сөз болады.

Summary

Given a structure of types and report on some questions of ecology of helminthes, all three populations of saigaks in Kazakhstan.

УДК 595.754

Есенбекова П.А.

К ФАУНЕ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫХ (*Heteroptera*) САЙРАМ-УГАМСКОГО ПРИРОДНОГО ПАРКА (ЮЖНЫЙ КАЗАХСТАН) (Институт зоологии МОН РК)

*В результате проведенных исследований за летний период 2009 года было выявлено 41 вид из 17 семейств полужесткокрылых насекомых. Массовыми видами из них оказались *Graphosoma lineatum*, *Eurygaster integriceps*, *Heterogaster arthemisiae*, *Sigara striata*.*

Материалом для настоящей статьи послужили сборы автора в Сайрам-Угамского природного парка (Тулкибасский и Угамский филиалы) в 2009 г. Малый срок работы (один вегетационный сезон), огромная территория, маршрутный метод обследования не позволили проследить экологию полужесткокрылых с нужной полнотой. Тем не менее собранный материал дает достаточное представление об их распределении в Сайрам-Угамском природном парке, где нами найдено 41 вид полужесткокрылых насекомых.

Изучение фауны и экологии полужесткокрылых проводилось методами маршрутных обследований. Для сбора клопов применялись различные методики: кошение энтомологическим сачком, сбор эксгаустером, лов на свет и др. Водные полужесткокрылые собирались водным сачком.

Материалы были собраны в стоячих водоемах, на реке Угам, Кокбулак, Даубаба, на горной, предгорной, степной и пустынной растительности. Для определения видов использованы определители следующих авторов: Асанова, Искаков [1]; Канюкова [2]; Кержнер [3]; Кержнер, Ячевский [4]; Кириченко [5]; Пучков [6, 7, 8, 9]; Элов [10].

Ниже перечислены виды, обнаруженные на исследованных территориях. Для каждого вида приведены точки и даты сборов.

Семейство *Pentatomidae*

Dolycoris baccarum (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.) и Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 1 экз.; горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м.), 16.07.2009. 1 экз.; ущ. Даубаба (1100-1200 м н.ур.м.). 13.07.2009. 3 экз. На сложноцветных.

Aelia sibirica Reuter 1886 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 1 экз. На злаковых травах.

Carpocoris pudicus (Poda, 1761) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. Таласский Алатау, ущ. Даубаба (1100-1200 м н.ур.м.). 13.07.2009. 3 экз. На сложноцветных.

Codophila varia (Fabricius, 1787) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На крестоцветных растениях.

Graphosoma lineatum (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.) и Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 5 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 2 экз.; горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м.), 16.07.2009. 6 экз.; ущ. Даубаба. 13.07.2009. 2 экз. На зонтичных растениях.

Stagonomus bipunctatus (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 1 экз. на губоцветных.

Семейство *Scutelleridae*

Eurygaster integriceps Puton, 1881 - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал, кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 2 экз.; Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 7 экз.+личинки. На злаковых травах.

Eurygaster maura (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. Таласский Алатау, ущ. Даубаба (1100-1200 м н.ур.м.). 13.07.2009. 2 экз. На злаковых травах.

Семейство *Acanthosomatidae*

Elasmucha grisea (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На ясене.

Семейство *Coreidae*

Coreus marginatus (Linnaeus, 1758) – Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 4 экз. На конском щавеле.

Семейство *Alydidae*

Camptopus lateralis (Germar, 1817) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал, кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 1 экз.; Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 7 экз. На бобовых растениях.

Семейство *Rhopalidae*

Brachycarenum tigrinus (Schilling, 1829) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.) и Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 4 экз.; ущ. Даубаба (1100-1200 м н.ур.м.). 13.07.2009. 1 экз. На крестоцветных.

Corizus hyoscyami (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.) и Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 6 экз.; горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м.), 16.07.2009. 2 экз. На травянистых растениях (ромашка, молочай).

Rhopalus maculatus (Fieber, 1837) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На сложноцветных растениях.

Rhopalus parumpunctatus Schilling, 1829 - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м), 16.07.2009. 4 экз. На сложноцветных, губоцветных и крестоцветных растениях.

Rhopalus subrufus (Gmelin, 1790) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м), 16.07.2009. 2 экз. На бобовых и губоцветных растениях.

Stictopleurus abutilon (Rossi, 1790) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м), 16.07.2009. 2 экз. На сложноцветных растениях.

Maccevethus errans (Fabricius, 1794) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, горы Казыгурт, ущ. Бокшелпек (1500-1700 м н.ур.м), 16.07.2009. 1 экз. На сложноцветных.

Семейство Miridae

Adelphocoris lineolatus (Goeze, 1778) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 8 экз. На бобовых.

Brachycoleus decolor Reuter, 1887 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 5 экз. На бобовых и злаковых растениях.

Deraeocoris ruber L. - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На травянистых растениях.

Plagiognathus bipunctatus Reuter, 1883 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 5 экз. На бобовых и сложноцветных.

Psallopsis similis Wagner, 1958 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 11 экз. (на травянистых растениях).

Stenodema calcarata (Fallen, 1807) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 8 экз.; Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 5 экз. На злаковых растениях.

Liocoris tripustulatus (Fabricius, 1781) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 2 экз. На полыни.

Phytocoris varipes Boheman, 1852 - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 1 экз. Среди разнотравья.

Семейство Nabidae

Nabis brevis Scholtz, 1847 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз. Найден в травостое.

Aptus maracandicus (Reuter, 1890) - Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. ущ. Даубаба (1100-1200 м н.ур.м). 13.07.2009. 5 экз. На зонтичных.

Семейство Lygaeidae

Nysius thymi (Wolff, 1804) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На крестоцветных.

Beosus maritimus Scopoli, 1763 - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.; кордон Шурен, пойма р. Арысь. 15.07.2009. 1 экз. На поверхности почвы и среди растений.

Heterogaster arthemisiae Schilling, 1829 - Южный Казахстан, Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 5 экз. На полынях.

Raglius alboacuminatus (Goeze, 1778) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. Таласский Алатау, ущ. Даубаба. 13.07.2009. 1 экз. На поверхности почвы и среди растений.

Семейство Anthocoridae

Orius minutus (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Казыгурт (1500-1700 м н.ур.м), ущ. Бокшелпек. Сайрам-Угамский ГНПП, Угамский филиал. 16.07.2009. 4 экз. На травянистых растениях.

Семейство Reduviidae

Rhynocoris iracundus (Poda, 1761) – Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. Таласский Алатау, ущ. Даубаба. 13.07.2009. 1 экз. На травянистых растениях.

Семейство Tingidae

Tingis pilosa (Hummel, 1825) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 1 экз. На губоцветных.

Семейство Nepidae

Nepa cinerea Linnaeus, 1758 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз.+2 личинки. На пойменных водоемах.

Семейство Hydrometridae

Hydrometra stagnorum (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз. Вдоль берегов слабопроточных водоемов.

Таблица - Таксономический состав фауны клопов Сайрам-Угамского ГНПП

Семейство	Виды	Частота встречаемости	Кормовая специализация
<i>Saldidae</i>	<i>Saldula palustris</i> (Douglas, 1874)	+	Зоофаг
<i>Corixidae</i>	<i>Corixa jakowleffi</i> Horvath, 1880	+	Зоофитофаг
	<i>Sigara striata</i> (Linnaeus, 1758)	+++	Зоофитофаг
<i>Gerridae</i>	<i>Gerris costae fieberi</i> Stichel, 1938	++	Зоофаг
<i>Hydrometridae</i>	<i>Hydrometra stagnorum</i> (Linnaeus, 1758)	+	Зоофаг
<i>Nepidae</i>	<i>Nepa cinerea</i> Linnaeus, 1758	++	Зоофаг
<i>Tingidae</i>	<i>Tingis pilosa</i> (Hummel, 1825)	+	Фитофаг
<i>Reduviidae</i>	<i>Rhynocoris iracundus</i> (Poda, 1761)	++	Зоофаг
<i>Anthocoridae</i>	<i>Orius minutus</i> (Linnaeus, 1758)	++	Зоофаг
<i>Lygaeidae</i>	<i>Nysius thymi</i> (Wolff, 1804)	++	Фитофаг
	<i>Beosus maritimus</i> Scopoli, 1763	+	Фитофаг
	<i>Heterogaster arthemisiae</i> Schilling, 1829	+++	Фитофаг
	<i>Raglius alboacuminatus</i> (Goeze, 1778)	+	Фитофаг
<i>Nabidae</i>	<i>Nabis brevis</i> Scholtz, 1847	++	Зоофаг
	<i>Aptus maracandicus</i> (Reuter, 1890)	++	Зоофаг
<i>Miridae</i>	<i>Adelphocoris lineolatus</i> (Goeze, 1778)	++	Фитофаг
	<i>Brachycoleus decolor</i> Reuter, 1887	++	Фитофаг
	<i>Deraeocoris ruber</i> (Linnaeus, 1758)	+	Зоофаг
	<i>Psallopsis similis</i> Wagner, 1958	++	Фитофаг
	<i>Plagiognathus bipunctatus</i> Reuter, 1883	++	Фитофаг
	<i>Stenodema calcarata</i> (Fallen, 1807)	++	Фитофаг
	<i>Liocoris tripustulatus</i> (Fabricius, 1781)	+	Зоофитофаг
	<i>Phytocoris varipes</i> Boheman, 1852		
<i>Rhopalidae</i>	<i>Maccevethus errans</i> (Fabricius, 1794)	+	Фитофаг
	<i>Stictopleurus abutilon</i> (Rossi, 1790)	++	Фитофаг
	<i>Rhopalus subrufus</i> (Gmelin, 1790)	++	Фитофаг
	<i>Rhopalus parumpunctatus</i> Schilling, 1829	++	Фитофаг
	<i>Rhopalus maculatus</i> (Fieber, 1837)	++	Фитофаг
	<i>Corizus hyoscyami</i> (Linnaeus, 1758)	++	Фитофаг
	<i>Brachycarenum tigrinus</i> (Schilling, 1829)	++	Фитофаг
<i>Alydidae</i>	<i>Camptopus lateralis</i> (Germar, 1817)	++	Фитофаг
<i>Acanthosomatidae</i>	<i>Elasmucha grisea</i> (Linnaeus, 1758)	+	Фитофаг
<i>Scutelleridae</i>	<i>Eurygaster integriceps</i> Puton, 1881	+++	Фитофаг
	<i>Eurygaster maura</i> (Linnaeus, 1758)	++	Фитофаг

Продолжение таблицы

<i>Pentatomidae</i>	<i>Dolycoris baccarum</i> (Linnaeus, 1758)	++	Фитофаг
	<i>Aelia sibirica</i> Reuter, 1886	++	Фитофаг
	<i>Carpocoris pudicus</i> (Poda, 1761)	++	Фитофаг
	<i>Codophila varia</i> (Fabricius, 1787)	++	Фитофаг
	<i>Graphosoma lineatum</i> (Linnaeus, 1758)	+++	Фитофаг
	<i>Stagonomus bipunctatus</i> (Linnaeus, 1758)	+	Фитофаг
<i>Coreidae</i>	<i>Coreus marginatus</i> (Linnaeus, 1758)	++	Фитофаг
17 семейств	37 родов 41 вид		

Условные обозначения: (+++) – в массе; (++) – средняя численность; (+) – редки.

Семейство Gerridae

Gerris costae fieberi Stichel, 1938 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз. На поверхности воды слабопроточных водоемов.

Семейство Corixidae

Corixa jakowleffi Horvath, 1880 - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Иирсу (1200-1300 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 2 экз. В стоячих водоемах.

Sigara striata (Linnaeus, 1758) - Южный Казахстан, Таласский Алатау, ущ. Кокбулак (1050-1100 м н.ур.м.), Сайрам-Угамский ГНПП. Тулкибасский филиал. 14.07.2009. 3 экз. В слабопроточных пойменных водоемах.

Семейство Saldidae

Saldula palustris (Douglas, 1874) - Южный Казахстан, Сайрам-Угамский ГНПП, Тулкибасский филиал. Таласский Алатау, ущ. Даубаба. 13.07.2009. 1 экз. На мокрой почве на берегу водоема

В результате проведенных исследований за летний период 2009 года было выявлено 40 видов из 17 семейств полужесткокрылых насекомых.

Таким образом, питание животной пищей свойственно сем. Nepidae, Saldidae, Gerridae, Nabidae, Anthocoridae, Reduviidae, а животной и растительной пищей представители сем. Miridae и Corixidae. Представители остальных семейств питаются чисто растительной пищей.

Больше всего видов выявлено сем. Miridae (8 видов), сем. Lygaeidae и Rhopalidae (по 7 видов). Массовыми видами оказались *Graphosoma lineatum* (сем. Pentatomidae), *Eurygaster integriceps* (сем. Scutelleridae), *Heterogaster arthemisiae* (сем. Lygaeidae), *Sigara striata* (сем. Corixidae).

Литература

1 Асанова Р.Б., Искаков Б.В. Вредные и полезные полужесткокрылые (Heteroptera) Казахстана // *Определитель*. Издательство «Кайнар», Алма-Ата. 1977. 203 с.

2 Канюкова Е.В. Водные полужесткокрылые насекомые (Heteroptera: Nepomorpha, Gerromorpha) фауны России и сопредельных стран // *Владивосток, Дальнаука*. 2006. 296 с.

3 Кержнер И.М. Полужесткокрылые семейства Nabidae. Насекомые хоботные // *Фауна СССР. Нов. сер. Т. 13. Вып. 2. Л. 1982. Изд-во «Наука»*. 326 с.

4 Кержнер И.М., Ячевский Т.Л. *Определитель насекомых европейской части СССР* // *АН СССР. Зоологический институт. Изд-во «Наука»*. 1964. Том 1. С. 655-845.

5 Кириченко А.Н. Настоящие полужесткокрылые европейской части СССР (Hemiptera) // *Определитель и библиография. Изд-во АН СССР. М.-Л. 1951*. 423 с.

6 Пучков В.Г. Фауна України. Лігеїди // *Т. 21, в. 3, Киев. 1969*. 388 с.

7 Пучков В.Г. Тингіди (Tingidae). В кн.: *Фауна України* // *Т. 21, в. 4. Киев. 1974*. С. 131-304.

8 Пучков В.Г. Щитники Средней Азии (Hemiptera, Pentatomoidea) // *Издательство «Илим»*. Фрунзе, 1965. 330 с.

9 Пучков В.Г. Полужесткокрылые семейства Rhopalidae фауны СССР // *АН СССР. Зоологический институт. Ленинград. Изд-во «Наука»*. 1986. 132 с.

10 Элов Э.С. Полужесткокрылые сем. Anthocoridae (Heteroptera) Средней Азии и Казахстана // *Энтомологическое обозрение, LV, 2, Л., 1976. Изд-во «Наука»*. С. 369-380.

Тұжырым

Зерттеу нәтижесінде жартылай қаттықанаттылардың 17 тұқымдасына жататын 41 түрі анықталды. Олардың ішінде көп кездесетін түрлер: *Anthemina varicornis*, *Cymus glandicolor*, *Kleidocerys resedae*, *Notonecta glauca*, *Agramma articipilla*, *Stenodema laevigata*.

Summary

During conducted research in summer 2009 the 41 species of heteropterans from 17 families were found. The mass species are *Anthemina varicornis*, *Cymus glandicolor*, *Kleidocerys resedae*, *Notonecta glauca*, *Agramma articipilla*, *Stenodema laevigata*.

УДК 612.23+612.27+612.28

Акимова О.Г.

ОСОБЕННОСТИ МОБИЛИЗАЦИИ ФУНКЦИЙ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ У СПОРТСМЕНОВ ПРИ НАПРЯЖЕННОЙ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЕ В ПЕРИОД РЕАККЛИМАТИЗАЦИИ ПОСЛЕ ТРЕНИРОВОК В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГОРЬЯ

(Научно-исследовательский институт спорта Казахской академии спорта и туризма)

Тренировки в горах оказывают неоднозначное влияние на функциональную мобилизацию у спортсменов при напряженной мышечной работе в период реакклиматизации.

В настоящее время тренировки в условиях среднегорья широко используются в качестве средства повышения мастерства спортсменов различных специализаций [1, 2, 3]. Наряду с положительной динамикой спортивных результатов известны случаи неудачных выступлений спортсменов в состязаниях после тренировок в горной местности, что позволило некоторым специалистам выразить сомнение в отношении эффективности их использования. Причина таких взглядов обусловлена недостаточным обоснованием оптимальных сроков, способствующих наиболее успешному выступлению в соревнованиях на равнине или в предгорьях после горной тренировки. Ф.П. Суслов и Е.Б. Гиппенрейтер приводят анализ спортивных результатов ведущих бегунов Казахстана, которые, тренируясь в горах, использовали трёхнедельный мезоцикл [2]. Полученные данные свидетельствуют, что наибольшее количество неудачных стартов зафиксировано у бегунов на 1-2 и 9-10 день реакклиматизации. Постепенно к концу второй недели спортивная работоспособность начинает повышаться и достигает самого высокого уровня к концу третьей и началу четвертой недели реакклиматизации. Полагают, что за этот период завершается формирование адекватных условиям окружающей среды моторно-висцеральных координаций, позволяющих реализовать повышенное функциональное состояние в спортивный результат. Авторы отмечают, что достоверных сведений о снижении спортивных результатов после 15-18 дня реакклиматизации очень мало. Вместе с тем в литературе приводятся противоречивые оценки влияния факторов горной среды на мобилизационные возможности организма спортсменов, как в горных условиях, так и в период реакклиматизации [4, 5].

Цель исследований - изучить процессы вработывания, формирования устойчивого состояния и восстановления кардиореспираторной системы при физических нагрузках в период реакклиматизации после трёхнедельных тренировок в условиях среднегорья.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 13 бегунов на средние и длинные дистанции I-II разряда в возрасте 18-20 лет (масса тела 66 ± 1 кг), для которых в начале подготовительного периода годового цикла тренировок был организован трёхнедельный тренировочный сбор в условиях среднегорья (1800 м над уровнем моря). Исследования проводились до подъёма в горы на высоте 800 м и на 19-24-й день реакклиматизации. Процессы вработывания, формирования устойчивого состояния и восстановления изучали при выполнении равномерной физической нагрузки субмаксимальной аэробной мощности ($211 \pm 7,3$ Вт) на велоэргометре «Monark». Физиологические параметры регистрировались в состоянии покоя, непрерывно в течение 20-минутной физической нагрузки и 30 минут восстановления. Частоту сердечных сокращений (ЧСС) подсчитывали по электрокардиограмме. Минутный объём дыхания (МОД) и потребление кислорода определяли по методу Дугласа-Холдена. Темп вработывания функций оценивали по отношению уровней текущего к наибольшему во время нагрузки за вычетом показателей состояния покоя. Темп восстановления функций оценивали по отношению уровня текущего к уровню на последней минуте физической нагрузки за вычетом показателей состояния покоя. Полученные данные обработаны с использованием методов вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Как показал сравнительный анализ полученных данных, до подъёма в горы наибольший уровень частоты сердечных сокращений при физической нагрузке у обследуемой группы спортсменов соответствовал $172,8 \pm 2,92$ уд/мин, но после тренировок в среднегорье наблюдалась тенденция его понижения (3,9%). Отмечались существенные индивидуальные отличия темпа мобилизации ЧСС на первых секундах физической нагрузки. Так, до подъёма в горы диапазон

индивидуальных колебаний на первых шести секундах работы составил 40,3-63% и на 19-24 день реакклиматизации – 36,7-62,2%. Вместе с тем, у семи спортсменов, темп вработывания которых до подъёма в горы на первых шести секундах физической нагрузки был высокий ($56,6 \pm 1,25\%$), после горных тренировок замедлился (9,8%, $p < 0,01$) (рисунок 1). Тогда как у пяти спортсменов до подъёма в горы темп мобилизации функции на первых шести секундах физической нагрузки был низким ($46,7 \pm 2,04\%$), но после горных тренировок ускорился (5,7%) (рисунок 2).

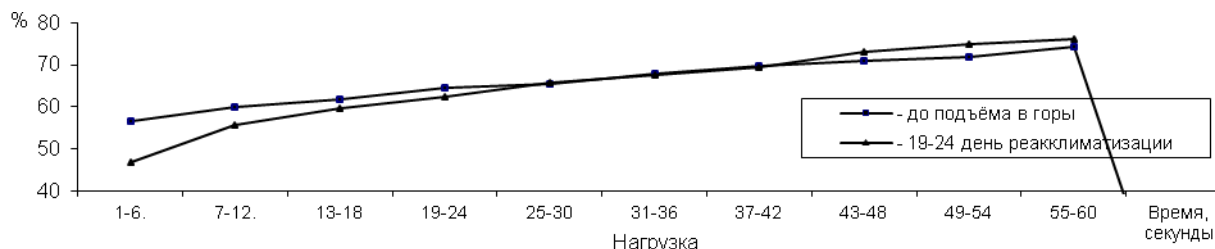


Рисунок 1 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения ЧСС в течение первой минуты субмаксимальной физической нагрузки до и после тренировок в условиях среднегорья (n=7)

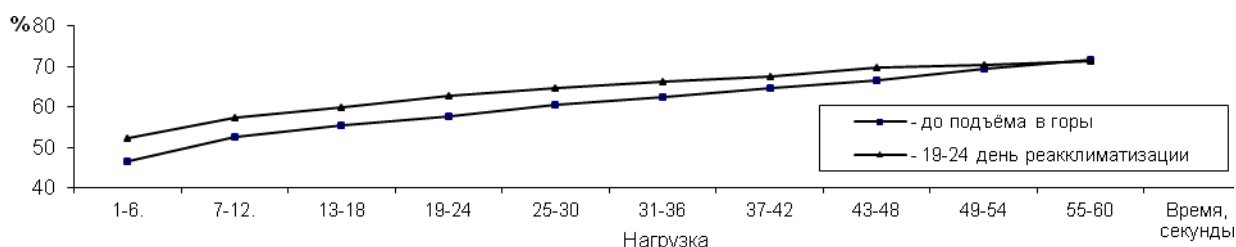


Рисунок 2 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения ЧСС в течение первой минуты субмаксимальной физической нагрузки до и после тренировок в условиях среднегорья (n=5)

По результатам оценки скорости функциональной мобилизации на основе определения ЧСС в течение 20 минут физической нагрузки спортсмены разделились на две группы - первая (n=8) и вторая (n=5). На 19-24-й день реакклиматизации у спортсменов первой группы на третьей минуте физической нагрузки вработывание сердечного ритма замедлилось на 4,2%, и в дальнейшем темп мобилизации сердечного ритма также уступал предгорному уровню (рисунок 3). Так, если до подъёма в горы у спортсменов этой группы уровень мобилизации ЧСС достигал $90,4 \pm 1,66\%$ на пятой минуте работы, то на 19-24-й день реакклиматизации только на десятой ($91,2 \pm 2,51\%$). Вместе с тем, до подъёма в горы у трёх спортсменов первой группы пульс повышался до 20-й минуты работы, а у пяти его стабилизация наступала раньше (8-я минуты – один спортсмен, 10-я – один, 15-я – три). На 19-24-й день реакклиматизации только у трёх спортсменов этой группы стабилизация пульса наступила на 15-й минуте работы, а у пяти пульс повышался до 20-й минуты. Во второй группе отмечалось ускорение вработывания ЧСС на третьей (6,5%, $p < 0,05$) и пятой минуте физической нагрузки (5%), а на последующих минутах темп мобилизации сердечного ритма не уступал предгорному уровню (рисунок 4).

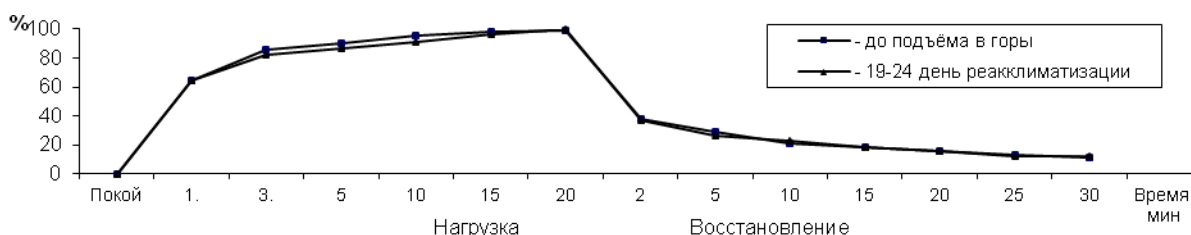


Рисунок 3 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения ЧСС при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья (n=8)

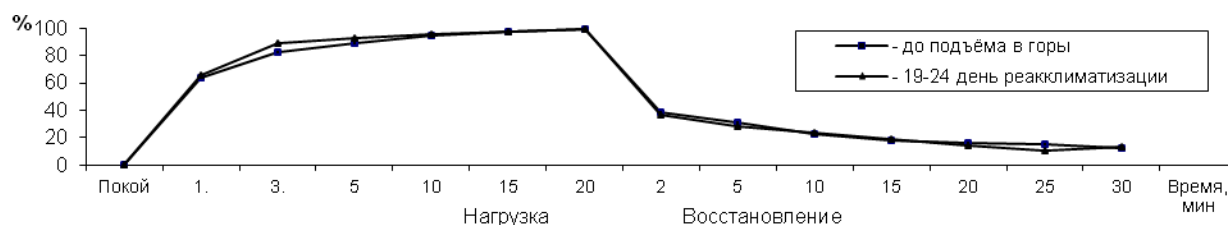


Рисунок 4 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения ЧСС при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья (n=5)

После горных тренировок у девяти спортсменов, пульс которых на 20-й минуте физической нагрузки до и после горных тренировок не отличался ($168,7 \pm 2,87$ и $169,7 \pm 3,74$ уд/мин соответственно), наблюдалось отставание восстановления частоты сердечных сокращений на первой минуте (5,4%, $p < 0,05$) и особенно заметно с 25-30 секунды (8,6%, $p < 0,05$) по 43-48 секунду (9,8%, $p < 0,02$) (рисунок 5). У четырёх спортсменов, пульс которых на 19-24 день реакклиматизации на 20-й минуте физической нагрузки снизился ($181,5 \pm 5,07$ и $173,25 \pm 4,27$ уд/мин соответственно до и после горных тренировок), восстановление на первой минуте после физической нагрузки ускорилось (5,1%) и особенно на 55-60 секундах (11,8%) (рисунок 6). В дальнейшем различия сглаживались. Однако как до подъёма в горы, так и на 19-24-й день реакклиматизации 30 минут отдыха было недостаточно для восстановления сердечного ритма до уровня покоя ($11,9 \pm 1,31$ и $12,6 \pm 1,68\%$ соответственно) (рисунки 3, 4).

До подъёма в горы вентиляция легких в устойчивом режиме функционирования при физической нагрузке соответствовала $114 \pm 5,75$ л, а после тренировок в условиях среднегорья наблюдалось её снижение. Результаты исследований показали существенные индивидуальные отличия функциональной мобилизации внешнего дыхания у спортсменов на первой минуте физической нагрузки, как до подъёма в горы (26,7-54,9%), так и на 19-24 день реакклиматизации (26,2-54,1%). В дальнейшем эти различия сглаживались.

Можно отметить то, что у пяти спортсменов, темп функциональной мобилизации которых на первой минуте физической нагрузки до подъёма в горы был высокий ($49,7 \pm 0,85\%$), после горных тренировок не изменился ($49,8 \pm 1,38\%$). Причём у этих спортсменов в режиме устойчивого функционирования снижение МОД было незначительно (5,5%). У трёх спортсменов на фоне снижения МОД (14%) наблюдалась тенденция снижения вработывания функции на первой минуте физической нагрузки ($43,4 \pm 5,97$ и $35,7 \pm 5,54\%$ соответственно до и после горных тренировок). Вместе с тем, у пяти спортсменов темп мобилизации которых на первой минуте физической нагрузки до подъёма в горы был низким ($35,3 \pm 3,09\%$), после горных тренировок на фоне существенного снижения МОД (21,1%) наблюдалось его ускорение до уровня $59,9 \pm 2\%$ ($p < 0,01$).

В соответствии с динамикой дальнейших изменений скорости мобилизации функции спортсмены были разделены на две группы. В первую группу вошли пять спортсменов и во вторую - восемь. До подъёма в горы спортсмены первой группы быстрее достигали оптимальных для данной работы величин легочной вентиляции ($103,8 \pm 6,9$ л), уровень которой был ниже, чем у спортсменов второй группы ($120,3 \pm 7,75$ л). Так, если спортсмены первой группы на третьей минуте физической нагрузки вышли на уровень вработывания легочной вентиляции $84,5 \pm 3,22\%$, то во второй группе — $69,8 \pm 4,79\%$ (рисунок 7, 8). В первой группе у спортсменов быстрее формировалось устойчивое состояние и на десятой минуте физической нагрузки они вышли на уровень $95,2 \pm 2,24\%$, тогда как спортсмены второй группы только на уровень $83,8 \pm 3,56\%$.

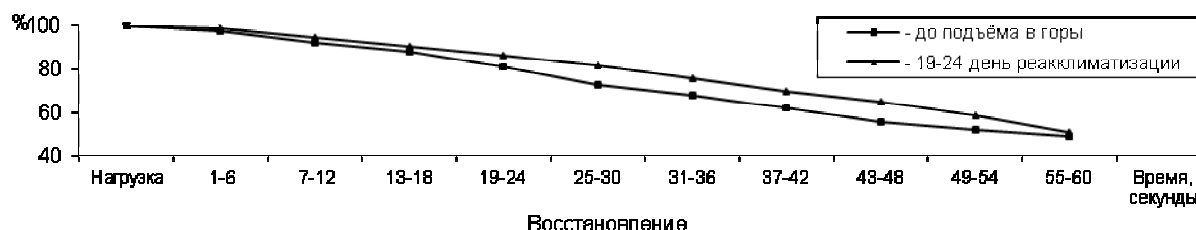


Рисунок 5 - Оценка скорости восстановления у спортсменов на основе определения ЧСС в течение первой минуты после субмаксимальной физической нагрузки до и после тренировок в условиях среднегорья (n=9)

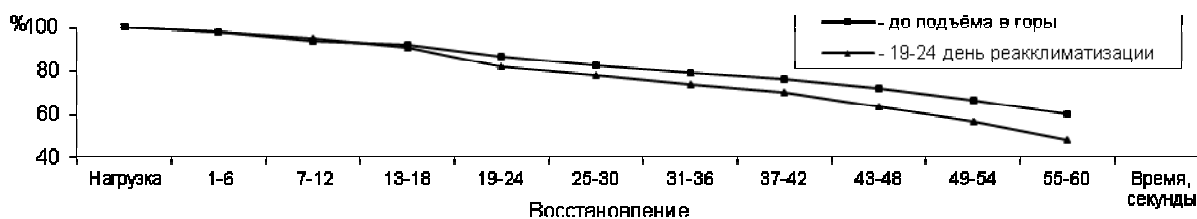


Рисунок 6 - Оценка скорости восстановления у спортсменов на основе определения ЧСС в течение первой минуты после субмаксимальной физической нагрузки до и после тренировок в условиях среднегорья (n=4)

После тренировок в условиях среднегорья у спортсменов первой группы уровень вентиляции легких в устойчивом состоянии при физической нагрузке снизился незначительно ($100,2 \pm 4,7$ л). Вместе с этим снизился темп функциональной мобилизации на третьей и пятой минуте физической нагрузки (5,1 и 11,3% соответственно), снизилась и скорость формирования устойчивого состояния (рисунок 7). Так, если до подъема в горы на устойчивый режим функционирования раньше 20-й минуты вышли четыре спортсмена этой группы (10-я минута – два спортсмена, 15-я – два), то на 19-24-й день реакклиматизации только два спортсмена (10 и 15 минута).

У спортсменов второй группы на фоне существенной функциональной экономизации (МОД в режиме устойчивого функционирования снизился на 18,4%) наблюдалось ускорение вработывания на третьей (13,7%, $p < 0,05$) и на пятой минуте физической нагрузки (13,5%, $p < 0,05$) (рисунок 8). У спортсменов этой группы ускорилось и формирование устойчивого состояния. Так, если до подъема в горы на устойчивый режим функционирования раньше 20-й минуты вышли три спортсмена (10 минута – один спортсмен, 15 – два), то на 19-24-й день реакклиматизации – шесть (5 минута – один спортсмен, 10 – четыре и 15 – один).

Результаты исследований выявили одну особенность мобилизации легочной вентиляции, которая заключалась в том, что если на третьей минуте до подъема в горы уровень темпа вработывания спортсменов ($n=8$) соответствовал ниже 80%, то на 19-24 день реакклиматизации наблюдалось его ускорение (13,6%, $p < 0,01$). Но, если уровень мобилизации МОД у спортсменов на третьей минуте нагрузки до подъема в горы был выше 80%, то после тренировок в условиях среднегорья темп мобилизации, либо сохранялся на прежнем уровне, либо проявлял тенденцию к снижению.

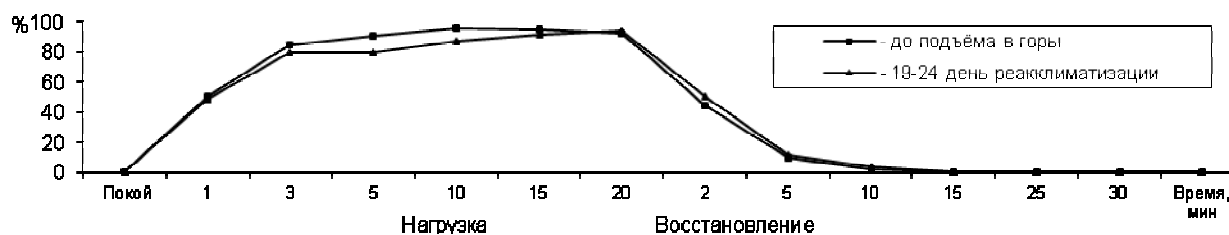


Рисунок 7 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения МОД при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья (n=5)

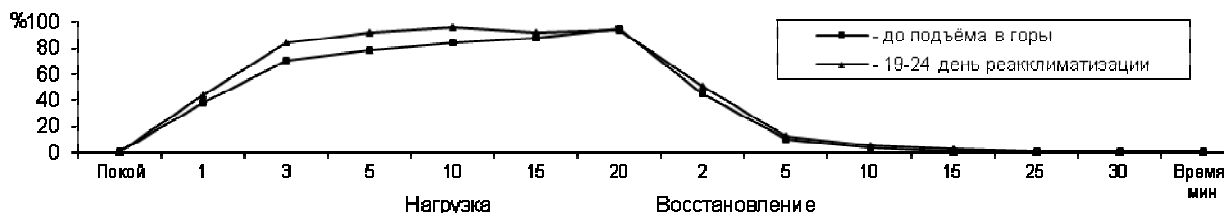


Рисунок 8 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения МОД при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья (n=8)

На 19-24-й день реакклиматизации в течение первых двух минут после физической нагрузки темп восстановления МОД у девяти спортсменов отставал (11,6%, $p < 0,02$). У четырех спортсменов восстановление МОД до подъема в горы протекало медленнее других, но после тренировок в

среднегорье ускорилось (7,4%, $p<0,05$). Далее различия сглаживались, и на 25-й минуте функция полностью восстанавливалась (рисунки 7, 8).

Результаты исследований показали, что процесс вработывания характеризовался выраженными индивидуальными отличиями потребления кислорода на первой минуте работы. Так, до подъёма в горы диапазон индивидуальных колебаний составил 41,2-68,8% и на 19-24 день реакклиматизации – 37,4-67,8%. Далее различия между спортсменами сглаживались. На первой минуте физической нагрузки до подъёма в горы у семи спортсменов, темп функциональной мобилизации был высокий ($59,2\pm2,81\%$), после горных тренировок наблюдалась тенденция его снижения ($53,3\pm3,47\%$). Вместе с тем, у шести спортсменов темп мобилизации на первой минуте физической нагрузки до подъёма в горы был существенно ниже ($47,5\pm1,91\%$), после горных тренировок уровень его поднялся до $59,9\pm2\%$ ($p<0,01$).

В соответствии с динамикой дальнейших изменений скорости мобилизации функции спортсмены разделились на две группы - первая ($n=6$) и вторая ($n=7$). До подъёма в горы спортсмены первой группы быстрее достигали оптимальных для данной работы величин потребления кислорода (3026 ± 164 мл), уровень которого был ниже, чем у спортсменов второй группы (3411 ± 164 мл). Так, если спортсмены первой группы на третьей минуте физической нагрузки вышли на уровень потребления кислорода $93,1\pm2,13\%$, то во второй группе – $74,9\pm3,76\%$ (рисунки 9, 10). В первой группе у спортсменов быстрее формировалось устойчивое состояние и пять из них вышли на устойчивый режим потребления кислорода раньше 20-й минуты (3 минута – один спортсмен, 5 – один, 10 – два, 15 – один). Тогда как у спортсменов второй группы потребление кислорода повышалось до 20-й минуты.

После тренировок в условиях среднегорья в первой группе потребление кислорода при физической нагрузке в устойчивом режиме функционирования снизилось (3,2%). Вместе с тем отмечалась тенденция замедления вработывания на третьей и пятой минуте физической нагрузки (5,8 и 6,3% соответственно) и формирования устойчивого состояния (рисунок 9). Так, если до подъёма в горы спортсмены этой группы вышли на уровень потребления кислорода $93,1\pm2,13\%$ на третьей минуте физической нагрузки, то на 19-24 день реакклиматизации только на 15-й ($94\pm2,12\%$). На устойчивый режим функционирования раньше 20-й минуты вышли только два спортсмена (10 и 15 минута).

Во второй группе после тренировок в среднегорье на фоне существенной функциональной экономизации, о чём свидетельствует снижение потребления кислорода при физической нагрузке (11,6%), спортсмены быстрее достигали оптимальных для данной работы величин потребления кислорода (рисунок 10). На третьей минуте физической нагрузки темп вработывания ускорился (10,85%, $p<0,05$). Существенно ускорился и процесс формирования устойчивого состояния. Так, если до подъёма в горы спортсмены вышли на уровень потребления кислорода $86,1\pm3,37\%$ на 10-й минуте физической нагрузки, то на 19-24-й день реакклиматизации на третьей ($85,8\pm2,33\%$). На устойчивый режим функционирования раньше 20-й минуты вышли пять спортсменов (5 минута – один спортсмен, 10 – два и 15 – два).

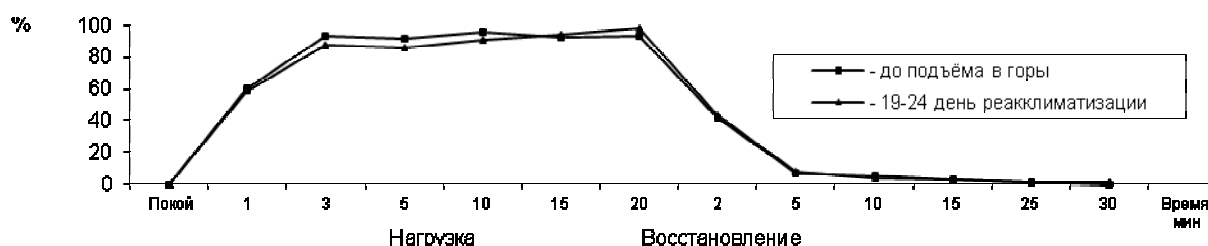


Рисунок 9 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения потребления кислорода при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья ($n=6$)

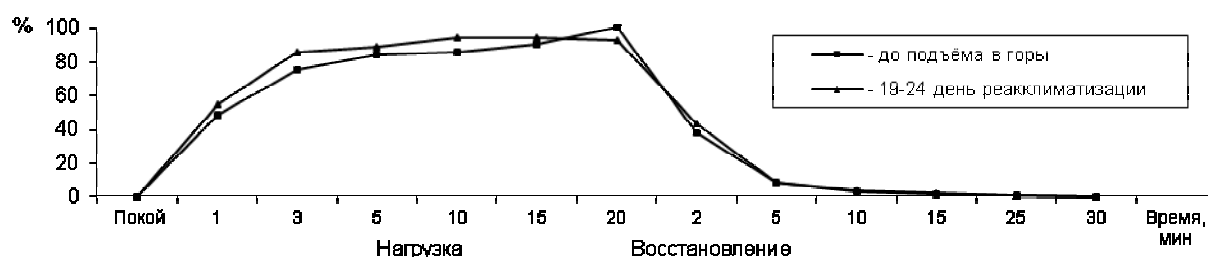


Рисунок 10 - Оценка функциональной мобилизации у спортсменов на основе определения потребления кислорода при субмаксимальной физической нагрузке до и после тренировок в условиях среднегорья (n=7)

После горных тренировок в восстановительный период в динамике потребления кислорода наблюдались различия. В течение первых двух минут у двух спортсменов, восстановление которых до подъема в горы протекало медленнее других (уровень восстановления 48 и 50%), после горных тренировок ускорилось (7,5 и 6,2% соответственно). Скорость восстановления четырех спортсменов не изменилась (до и после горных тренировок $40,6 \pm 1,94$ и $40 \pm 1,85\%$ соответственно). Тогда как у семи спортсменов, восстановление которых до подъема в горы протекало быстрее других ($36,7 \pm 2,19\%$), после горных тренировок наблюдалось его замедление (9,1%, $p < 0,01$). Далее различия сглаживались, и на 25-й минуте функция полностью восстанавливалась (рисунки 9, 10).

Таким образом, процесс встраивания кардиореспираторной системы характеризовался выраженными индивидуальными отличиями во время первой минуты субмаксимальной физической нагрузки. Положительный эффект горных тренировок на 19-24 день реакклиматизации проявился в следующем. Спортсмены, которые обладали до подъема в горы высокой скоростью функциональной мобилизации кардиореспираторной системы, у них на фоне снижения функциональной напряженности (снижение ЧСС, МОД и потребления кислорода) при мышечной работе скорость встраивания и формирования устойчивого состояния не менялась, либо проявляла тенденцию к снижению. Замедление скорости функциональной мобилизации в данном случае рассматривается как закономерная реакция, обусловленная повышением адаптационных возможностей организма. Спортсмены, обладающие до подъема в горы низким уровнем адаптации к физическим нагрузкам субмаксимальной аэробной мощности и низкой скоростью функциональной мобилизации, у них с ростом тренированности на фоне развития функциональной экономизации (существенное снижение ЧСС, МОД и потребления кислорода) отмечалось повышение скорости встраивания и формирования устойчивого состояния. В период реакклиматизации ускорение процессов восстановления наблюдалось только у спортсменов, которые до подъема в горы на первых минутах после субмаксимальной физической нагрузки восстанавливались медленнее других. Тогда как у большей части спортсменов после горных тренировок восстановление функций кардиореспираторной системы в течение первых минут после мышечной работы замедлилось.

В целом, результаты исследований показали, что тренировки в горах оказывают неоднозначное влияние на функциональную мобилизацию у спортсменов при напряженной мышечной работе. Можно полагать, что положительное влияние на процессы функциональной мобилизации спортсменов при напряженной физической нагрузке оказывает не только высотный фактор, но и уровень физической подготовки до подъема на высоту, режим двигательной активности в горной местности, индивидуальные особенности. В связи с этим существует настоятельная необходимость продолжения исследований с целью выявления условий формирования адаптационных механизмов, которые обеспечивают повышение резервных возможностей и физической работоспособности спортсменов. Решение проблемы повышения эффективности горной тренировки имеет существенное практическое значение, поскольку от этого в значительной мере зависят достижения спортсменов высокой квалификации.

Литература

1. Булатова М.М., Платонов В.Н. Спортсмен в различных климато-географических и погодных условиях. – Киев: Олимпийская литература, 1996. – 176 с.
2. Сулов Е.Б., Гиппенрейтер Е.Б. Подготовка спортсменов в горных условиях. М.: Терра-Спорт, Олимпия Пресс, 2000. – 176 с.
3. Иванов А.С., Закирьянов К.К., Макогонов А.Н. Оценка эффективности тренировки на разных горных высотах в системе подготовки спортсменов высокой квалификации // Современный

олимпийский спорт и спорт для всех: Доклады пленарных заседаний XI Международного научного конгресса. – Минск: БГУФК, 2007. – С.80-92.

4. *Спортивная физиология / Под ред. Я.М. Коца. – М.: Физическая культура и спорт, 1986. – 240 с.*

5. *Бреслав И.С., Иванов А.С. Дыхание и работоспособность человека в горных условиях. – Алма-Ата: Гылым, 1990. – 184 с.*

Тұжырым

Реакклиматизация кезеңінде шиеленіскен бұлшықет жүктемесі кезінде спортшылардың қызметтік қозғалмалылығына таудағы жаттықтырулар біркелкі емес әсер етеді.

Summary

Train in mountain is proving repeated influence at functional mobilization of sportsmen on effort freight muscle in period reacclimatization.

УДК 576.3.32:615.014.425

Altayeva A.S, Khanturin M.R

DIFFERENTIAL CYTOTOXIC EFFECTS OF HEAVY METALS ON THE NF- κ B SIGNAL PATHWAY AND EFFECT OF ANTIOXIDANT

(L.N. Gumilyov Eurasian National University)

NF- κ B is a multiprotein complex that is known to activate a great number of genes involved in the early cellular defense reactions of higher organisms and acts as transcription factor. NF- κ B is composed of with one 50-kD (p50) and one 65-kD (p65) polypeptide [1,2,3]. Within nonstimulated cells, NF- κ B resides in the cytoplasm in an inactive complex coupled with the inhibitor protein I κ B. Pathogenic stimuli cause phosphorylation and the release of I κ B. NF- κ B then enters the nucleus, binds to DNA control elements, and induces the synthesis of mRNA. A unique and puzzling feature of NF- κ B is that its activation is triggered by a great variety of agents, including the cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor, viruses, double-stranded RNA, endotoxins, phorbol esters, UV light, and ionizing radiation. Further, genes with the NF- κ B promoter sites encode cytokines, growth factors, cell adhesion molecules, and immuno receptors [3,4].

In view of its broad range of possible stimuli and target genes, it is not surprising that NF- κ B is considered a crucial regulator of the immune system. Evidence also suggests that NF- κ B plays a significant role in oncogenesis [2]. Evidence that H₂O₂ and not other forms of ROS served as messengers for NF- κ B activation also came from genetic experiments. As mentioned earlier, steady-state levels of H₂O₂ and O²⁻ in a cell are determined by the activity of antioxidant enzymes like catalase and Cu/Zn-SOD among others. Specifically, overexpression of the catalase gene will result in decreased intracellular H₂O₂ levels while overexpression of SOD results in increased dismutation of O²⁻ to H₂O₂ [5].

NF- κ B is found in almost all animal cell types and is involved in cellular responses to stimuli such as stress, cytokines, free radicals, ultraviolet irradiation, oxidized LDL [2,5], and bacterial or viral antigens. NF- κ B plays a key role in regulating the immune response to infection. Consistent with this role, incorrect regulation of NF- κ B has been linked to cancer, inflammatory and autoimmune diseases, septic shock, viral infection, and improper immune development [4,6]. Active NF- κ B turns on the expression of genes that keep the cell proliferating and protect the cell from conditions that would otherwise cause it to die via apoptosis. Defects in NF- κ B it's a result in increased susceptibility to apoptosis leading to increased cell death [6]. This is because NF- κ B regulates anti-apoptotic genes especially the TRAF1 and TRAF2 and thereby checks the activities of the caspase family of enzymes which are central to most apoptotic processes [6,7].

Heavy metal ions can be released by corroding metallic implants into the surrounding tissue. When they enter blood vessels some of them are carried by proteins like albumin and can be taken up by endothelial cells lining the vessels [7].

Nickel has been extensively studied with respect of gene induction. Nickel has been found to alter the expression of a surprisingly large number of genes. These include inactivation of senescence genes, inactivation of the antiangiogenic thrombospondin gene by induction of the activating transcription factor [8], silencing of a telomere marker gene, induction of the hypoxia-regulated gene cap 43 and others. Several of these genes are involved in the control of mitogenesis, and these findings provide a hypothesis for the stimulation of cell proliferation in nickel [9].

Baeuerle and co-workers investigated the activation of NF- κ B by the cytokine tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in mouse keratinocyte cell clones which contain stably integrated extra genes for catalase and SOD, resulting in higher levels of enzymatic activities [8,9]. Consistent with an important role for H₂O₂ but not O₂, catalase-overexpressing cells had decreased NF- κ B activation. Aminotriazole, a catalase inhibitor, restored a normal response. SOD-overexpressing cells showed a hyper induced NF- κ B activation, possibly resulting from an enhanced conversion of O₂ into H₂O₂ [10,11,13,14].

Heavy metal ions induce mechanisms of gene activation in endothelial cells as do proinflammatory mediators [11], indicating that corroding metal ion containing biomaterials can provoke inflammatory reactions by known, as well as by yet unknown, intracellular signaling pathways [11,12]. To study their involvement in the inflammatory response investigated heavy metal ion induced effects in cultured human vascular endothelial cells (HUVECs). NiCl₂ and CoCl₂ upregulate, especially in concentrations of 1 mM, the expression of adhesion molecules, as well as the cytokines IL-6 and IL-8 [15].

In addition, possible signal transduction mechanisms were elucidated. The HUVECs were treated with various selective inhibitory drugs followed by the incubation of metal ions before measuring the expression of the above-mentioned endothelial factors. Two protein kinase inhibitors (H-7 and H-8) strongly repressed Ni²⁺ and Co²⁺ enhanced expression. We showed that NiCl₂ and CoCl₂ activate the translocation of the transcription factor nuclear factor (NF)- κ B into the cell nucleus and enhance its binding to a NF- κ B consensus sequence as shown by mobility shift analysis [13,14,15]. Despite the repression of heavy metal induced adhesion molecule synthesis, did not detect any inhibition of NF- κ B translocation by H-7 or H-8. Therefore, it must be concluded that heavy metal ions like Ni²⁺ and Co²⁺ activate two or more signal transduction pathways in endothelial cells. There is one pathway in which H-7 and H-8 sensitive protein kinases are involved and a second pathway leading to NF- κ B activation, which is insensitive to H-7 and H-8 [14,15].

Chromate (VI) is the only carcinogenic metal species that directly generates reactive oxygen species by interaction with cellular reductants. Hydroxyl radicals, when generated in proximity to DNA, cause DNA strand breaks and oxidized bases. Besides causing direct gene mutations, Cr (VI)-evoked formation of OH[•] radicals has been shown to activate nuclear factor- κ B which may stimulate inflammatory processes. In a commercial DNA array test system employing human hepatoma cells, chromate (VI) at low concentrations of 5 – 10 M induced the promoters for c-Fos, HSP70, GADD45, NF- κ B, p53, XRE and CRE [16].

To delineate the molecular mechanisms of NF- κ B-mediated regulation of chromium (VI)-induced cell death, the signaling pathway leading to the activation of NF- κ B was interrupted by stable transfection of a kinase mutated form of I κ B kinase b (IKKb-KM). It was demonstrated a novel role for the NF- κ B transcription factor in inhibiting chromium (VI)-induced cell death. Inhibition of NF- κ B by IKKb-KM or IKKb gene deficiency resulted in a spontaneous cleavage of Bcl-xl anti-apoptotic protein due to the elevated caspase-3 activity. DNA microarray assay suggested a decreased expression of genes encoding anti-apoptotic proteins, cIAP1 and cIAP2, in the cells overexpression IKKb-KM. Chromium (VI) treatment of these NF- κ B-inhibited cells induced necrotic-like cell death. Such chromium(VI)-induced cell killing could be partially inhibited by expression of exogenous cIAP1, an inhibitor of caspases, indicating non-caspase cytotoxic mechanisms may be involved in chromium(VI)-induced cell death. Indeed, combination of cIAP1 and the antioxidant, N-acetylcysteine, resulted in a significant inhibition of chromium(VI)-induced cell death of NF- κ B-inhibited cells [17,16]. These results suggest that NF- κ B is essential for inhibiting reactive oxygen species-dependent cytotoxicity. Such inhibition may involve up-regulation of the expression of anti-death proteins including cIAP1 that prevents spontaneous caspase activation and subsequent cleavage of Bcl-xl protein. In tumor cells, NF- κ B is active either due to mutations in genes encoding the NF- κ B transcription factors themselves or in genes that control NF- κ B activity (such as I κ B genes); in addition, some tumor cells secrete factors that cause NF- κ B to become active. Blocking NF- κ B can cause tumor cells to stop proliferating, to die, or to become more sensitive to the action of anti-tumor agents [16]. Thus, NF- κ B is the subject of much active research among pharmaceutical companies as a target for anti-cancer therapy. Because NF- κ B controls many genes involved in inflammation, it is not surprising that NF- κ B is found to be chronically active in many inflammatory diseases, such as inflammatory bowel disease, arthritis, sepsis, asthma, among others [17,18].

In many cell lines, tumor promoters also induce activation of NF κ B. NF κ B is a rapidly induced stress- responsive transcription factor that functions to intensify the transcription of a variety of genes including cytokines, growth factors and acute response proteins and its activation has been shown to be linked to MAPK signaling pathways, especially p38 kinase 99 [18]. The mechanism for NF κ B activation is well known. In its inactive form, NF κ B is found in the cytosol bound to an inhibitory protein called inhibitory kappa B (I κ B). When stimulated, I κ B is phosphorylated, released from NF κ B, and subsequently

degraded [19]. Following separation from I κ B, NF κ B is translocated into the nucleus where it activates gene transcription by binding to its distinct DNA sequence found in specific genes. NF κ B activation is generally associated with initiation or acceleration of tumorigenesis and in JB6 cells, inhibition of NF κ B was shown to block tumor promoter- induced cell transformation. Earlier evidence suggests that NF κ B comprised of RelA- containing complexes has a significant anti- apoptotic role whereas complexes consisting of c-Rel or p50 possess pro – apoptotic properties [20]. The most common composition of NF κ B is Rel A, and this may explain why the results of most studies indicate that activation of NF κ B generally results in suppression of apoptosis whereas inhibition of NF κ B can induce apoptosis. Arsenic has been shown to have varying effects on NF κ B activity and DNA binding, including no effect [20,21], activation and inhibition of TNF α -induced activation. Therefore, because of its potential dual role in inhibiting or promoting apoptosis, NF κ B may be an important key in determining whether arsenic acts as a carcinogenic agent or as an effective therapeutic agent. Arsenite (500 μ M) was reported to prevent TNF α - induced NF κ B activation by directly blocking the activity of the I κ B kinase complex (IKK), which resulted in an inhibition of the phosphorylation and degradation of inhibitory kappa B alpha (I κ B α). Previous studies by this group showed that lower arsenite concentration (0.5-5 μ M) resulted in increased DNA synthesis and activation of NF κ B in aortic endothelial cells. Recently these finding were supported by the observation that low arsenite concentrations (1-5 μ M) were associated with cell proliferation whereas concentrations greater than 50 μ M caused cell death [19,20,21]. In these studies, ERKs kinases were only activated by arsenite at the higher concentrations whereas 5 μ M arsenite was sufficient to induce NF κ B-dependent transcription. Others showed previously that even though arsenite activated MAPKs and AP-1, NF κ B DNA binding or activation was not affected. Others have also shown that arsenite blocks I κ B α phosphorylation and degradation induced by TNF, although the mechanism was not fully elucidated, the inhibition was not mediated directly by MAPKs. Recent evidence suggested that arsenite (≥ 12.5) inhibits TNF – α –induced NF κ B and IKK activation by binding to Cys -179 in the activation loop of the IKK α and IKK β . Overexpression of IKK β protected NF κ B from inhibition by arsenite strongly suggesting that IKK may be a critical target for arsenite. Recent data showed that combined exposure of ATL cells to arsenic and IFN – α has dramatic synergistic effects on both cell cycle arrest and induction of apoptosis in these cells. The apoptotic effect of arsenic was caused by an up- regulation of I κ B – α , resulting in a sharp decrease in DNA binding of NF κ B complexes and suppression of NF κ B target genes due to the cytoplasmic retention of RelA. Similar to the effect on lymphocytes, sodium arsenite down regulates NF κ B activity by inhibiting phosphorylation and subsequent degradation of I κ B α in CaCo-2 cell. Arsenite activated all major mitogen-acti- vated protein kinase pathways in various mammalian cell lines, which is explained by inhibition of the corresponding protein phosphatases. Arsenite caused enhanced binding of the mitogenic transcription factor AP-1 to DNA, and it activated the expression of the early genes c -fos, c -myc and egr -1, and of the stress genes gadd 153 and gadd 45. The activation of transcription factor AP-1 and the induction of some early genes supports the hypothesis that arsenic promotes neoplastic growth through stimulation of cell proliferation. In another study, effects of metals on gene expression regulated by 13 different promoters in a recombinant cell line were investigated. Arsenate was found to activate the promoters for MTIIA, GSTY α , HSP70, Fos, NF κ B, p53. This list includes several genes coding for cytoprotective proteins, namely metallothionein, glutathione-S-transferase, and some stress proteins [20, 21, 22]. Arsenic also interfered with the transcriptional activity of glucocorticoid receptor complexes, thereby decreasing the expression of genes that down regulate cell proliferation in favor of differentiation. Other authors observed that arsenite inhibited the activation of the transcription factor NF-B and the transcription of genes mediated by this factor. This effect was found to be caused by an inhibition of I-B kinase, an enzyme required for the phosphorylation and degradation of the inhibitor I-B. Because the dominant effect of NF-B seems to be growth inhibitory, the prevention of NF-B activation by arsenite points to a further link to the stimulation of cell proliferation in arsenic-induced carcinogenesis. Examples for genes induced by cadmium and to cause a sustained activation of mitogen-activated protein kinases that correlated with the induction of c -fos The latter effect was specific for cadmium, because six other metal ions tested were inactive [15,24].

The activation of mitogenic signaling pathways offers an attractive hypothesis of cadmium carcinogenesis, which in synergy with the inhibition of DNA repair and in antagonism with the stimulation of cytoprotective mechanisms by cadmium, may explain the complex organ specificity in cadmium carcinogenesis [25].

The steady-state levels of ROS are determined by the rate of reactive oxygen species (ROS) production and their clearance by scavenging mechanisms. Certain antioxidative enzymes including SOD, glutathione peroxidase, catalase, and thioredoxin are potent ROS scavengers but occur in cells only at relatively low concentrations.

The same is true for nonenzymic antioxidants. Amino acids and proteins are also ROS scavengers. Amino acids are less effective than the classical antioxidants on a molar basis, but their cumulative intracellular concentration is 0.1 M [20].

Chemical antioxidants act by donating an electron to a free radical and converting it to a nonradical form. Likewise, such reducing compounds can terminate radical chain reactions and reduce hydroperoxides to less reactive derivatives. However, chemical antioxidant defense is a double-edged sword. When an antioxidant scavenges a free radical, its own free radical is formed. Many antioxidants can act as prooxidants by reducing non radical forms of oxygen to their radical derivatives, particularly if redox cycling occurs. The exact mix of pro- and antioxidant properties of a reducing compound is a complex interaction involving pH, relative reactivities of radical derivatives, availability of metal catalysts, and so forth. Anti- or pro-oxidant properties of sulfhydryl compounds depend upon pH, those of beta-carotene upon oxygen concentration [25,20,26]. Likewise, uric acid, probably a significant antioxidant in higher primates participates in a Fenton-type reaction with peroxide — a property which may be important in the etiology of gouty inflammatory disease [26].

ROS are useful as signalling molecules and in animal and plant host defense, but on the other hand they cause cellular damage if produced in an uncontrolled manner [27]. Therefore there is a need to remove ROS, and many enzymic and nonenzymic mechanisms are present in cells to achieve this. Superoxide ions can be removed, to form hydrogen peroxide, by the enzyme SOD. The cytosolic form contains Cu and Zn (Cu Zn-SOD), while a mitochondrial form contains Mn (Mn-SOD). H_2O_2 can be removed by glutathione peroxidase or catalase, both of which are heme-containing enzymes [26]. However, besides enzymes, many dietary components have antioxidant capacity, including β -caroten, ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E). Therefore, when considering how far ROS will travel, or in which part of the cell ROS will act, one has to consider that cells and organelles alike are well protected from the presence of ROS by a variety of means [26]. Heme proteins play a major role in various biological functions, such as oxygen sensing, electron transport, signal transduction, and antioxidant defense enzymes. Most of these reactions are carried out by redox reactions of heme iron. As the heme is not recycled, most cells containing heme-proteins have the microsomal mixed function oxygenase, heme oxygenase, which enzymatically degrades heme to biliverdin, carbon monoxide, and iron [27]. However, the red cell with the largest pool of heme protein, hemoglobin, contains no heme oxygenase, and enzymatic degradation of the red cell heme occurs only after the senescent red cells are removed by the reticuloendothelial system. Therefore, only nonenzymatic heme degradation initiated when the heme iron undergoes redox reactions in the presence of oxygen-producing ROS takes place in the red cell. Unlike enzymatic degradation, which specifically attacks the α -methene bridge, ROS randomly attack all the carbon methene bridges of the tetrapyrrole rings, producing various pyrrole products in addition to releasing iron [27,26].

The antioxidant and pro-oxidant behavior of flavonoids and the related activity-structure relationships were investigated by Cao's group [21,27], using the oxygen radical absorbance capacity assay. Both the antioxidant and the copperinitiated prooxidant activities of a flavonoid depend upon the number of hydroxyl substitutions in its backbone structure, which has neither antioxidant nor prooxidant action [25,27].

In general, the more hydroxyl substitutions, the stronger the antioxidant and prooxidant activities. The flavonoids that contain multiple hydroxyl substitutions showed antiperoxyl radical activities several times stronger than Trolox, an α -tocopherol analogue [21,22,23]. Alpha-Lipoic acid, which plays an essential role in mitochondrial dehydrogenase reactions, has recently gained considerable attention as an antioxidant. Lipoate, or its reduced form, dihydrolipoate, reacts with ROS such as O^{2-} , hydroxyl radicals, hypochlorous acid, peroxy radicals, and singlet oxygen. It also protects membranes by interacting with vitamin C and glutathione, which may in turn recycle vitamin E [23, 24, 26]. In addition to its antioxidant activities, dihydrolipoate may exert prooxidant actions through reduction of iron. Alpha-lipoic acid administration has been shown to be beneficial in a number of oxidative stress models such as ischemia reperfusion injury, diabetes (both α -lipoic acid and dihydrolipoic acid exhibit hydrophobic binding to proteins such as albumin, which can prevent glycation reactions), cataract formation, HIV activation, neurodegeneration, and radiation injury. Furthermore, lipoate can function as a redox regulator of proteins such as myoglobin, prolactin, thioredoxin and NF- κ B transcription factor [24].

Uric acid and its monoanion urate, is traditionally considered to be a metabolically inert end-product of purine metabolism in man, without any physiological value [25]. However, this ubiquitous compound has proven to be a selective antioxidant, capable especially of reaction with hydroxyl radicals and hypochlorous acid, itself being converted to innocuous products (allantoin, allantoate, glyoxylate, urea, and oxalate). There is now evidence for such processes not only in vitro and in isolated organs, but also in the human lung in vivo. Urate may also serve as an oxidisable cosubstrate for the enzyme cyclooxygenase [25,26]. Ferulic acid

is a ubiquitous plant constituent that arises from the metabolism of phenylalanine and tyrosine. It occurs primarily in seeds and leaves both in its free form and covalently linked to lignin and other biopolymers. Due to its phenolic nucleus and an extended side chain conjugation, it readily forms a resonance stabilized phenoxy radical which accounts for its potent antioxidant potential. UV absorption by ferulic acid catalyzes stable phenoxy radical formation and thereby potentiates its ability to terminate free radical chain reactions. By virtue of effectively scavenging deleterious radicals and suppressing radiation-induced oxidative reactions, ferulic acid may serve an important antioxidant function in preserving physiological integrity of cells exposed to both air and impinging UV radiation [27].

Many natural products (including anti-oxidants) that have been promoted to have anti-cancer and anti-inflammatory activity have also been shown to inhibit NF- κ B. That applies to the discovery and use of agents that can block NF- κ B for therapeutic purposes [26, 27].

Recent work by Karin, Ben-Neriah and others has highlighted the importance of the connection between NF- κ B, inflammation, and cancer, and underscored the value of therapies that regulate the activity of NF- κ B [23,25].

The importance of metals and other reactive oxygen species on NF- κ B activation is further supported by studies demonstrating that activation of NF- κ B by nearly all stimuli can be blocked by antioxidants, including N-acetyl cysteine (NAC), thiols, green tea, polyphenols and vitamin E [27].

Among the wide spectrum of antioxidant facilities such as tocopherol, carotin, vitamin C, selenium and other- succinic acid – natural metabolite of cycle Krebs acids proved well. Studying of protective action of succinic acid can be used for preventive treatment against different disease, even cancer.

Thus, the purpose of our further studying is to define protective action of succinic acid on human and animal cells.

References

- 1 Kfoury, Y., Ly. M, Hermine, O., Bazarbachi A. Proapoptotic regimes for HTLV- I- transformed cells: targeting NF kappa B pathway. *Cell Death Differ.*,12, 871-877.
- 2 Mathieu J., Besancon F., Clinically tolerable concentrations of arsenic trioxide induce p 53-independent cell death and repress NF kappa B activation. *Int. Cancer*, 119, 1723-1727.
- 3 Nesnow, S., Roop, B. C., Lambert, G., Kadiiska, M., Mason, R., Cullen, W. R., Mass, M. J. DNA damage induced by methylated trivalent arsenicals is mediated by reactive oxygen species. *Chem. Res. Toxicol.* 15:1627– 1634; 2002.
- 4 Yamanaka K, Okada S. Induction of lung-specific DNA damage by metabolically methylated arsenics via the production of free radicals. *Environ Health Perspect* 1994;102: 37-40.
- 5 Quievryn G., Messer J., Zhitkovich A., Carcinogenic chromium (VI) induces cross- linking of vitamin C to DNA in vitro and human lung A 549 cells. *Biochemistry* 41, 3156-3167.
- 6 Lee TC, Ho IC. Differential cytotoxic effects of arsenic on human and animal cells. *Environ Health Perspect* 1994; 102:101-5.
- 7 Seitz, C.S., Lin, Q., Deng, H., Khavari, P.A., 1998. Alterations in NF-B function in transgenic epithelial tissue demonstrate a growth inhibitory role for NF-B. *Proc. Natl. Academic Science. USA* 95, 2307 – 2312.
- 8 Zhou, D., Salnikow, K., Costa, M., 1998. Cap43, a novel gene specifically induced by Ni²⁺ + compounds. *Cancer Res.* 58, 2182 – 2189.
- 9 Tom K. Hei, and Metka Filipic . Role of oxidative damage in the genotoxicity of arsenic. *Free Radical Biology and Medicine* Vol.37, No.5, pp 574-581,2004.
- 10 Н. А. Болотина, А.В. Гаспарьян, Т.К. Дубовая, В.А. Евтеев, В.А. Кобляков. Активация бенз(а)пиреном транскрипционных факторов NF- κ B и AP-1 , связанных с промоторной стадией канцерогенеза, в культуре клеток гепатом. *Биохимия*, 2007, том 72, вып. 5, С 682-689.
- 11 Ahmad, S., Kitchin, K. T., Cullen, W. R. Arsenic species that cause release of iron from ferritin and generation of activated oxygen. *Arch. Biochem. Biophys.* 382:195– 202; 2000.
- 12 В.И. Луцак. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма. *Биохимия*, 2007, том 72, вып. 8, С. 995-1017.
- 13 Chen F., M. Ding, Castranova X.L, Carcinogenicity metals and NF kappa B activation. *Molecular Cell Biochemistry* 222, pp. 159- 171(2001).
- 14 Adcock I.M, Transcription factors as activators of gene transcription : AP -1 and NF kappa B. *Monaldi Arch Chest Dis* 1997: 52 pp 178.
- 15 Nackirdien Z., Kasparzak G., Halliwell M., Nickel (II) – dependent and Cobalt (II) – dependent damage by hydrogen –peroxide to the DNA bases in isolated human chromatin., *Cancer Research* . 51,

pp.5837-5842, 1999

16 Ramanathan, K.; Shila, S.; Kumaran, S.; Panneerselvam, C. Ascorbic acid and alpha-tocopherol as potent modulators on arsenic induced toxicity in mitochondria. *J. Nutr. Biochem.* 14:416–420;

17 Lee, T. C., Oshimura, M., Barrett, J. C. Comparison of arsenic induced cell transformation, cytotoxicity, mutation and cytogenetic effects in Syrian hamster embryo cells in culture. *Carcinogenesis* 6:1421– 1426; 1985.

18 Zhitcovich A., Importance of chromium -DNA adducts in mutagenecity and oxicity of chromium (VI), *Chemistry Research Toxicology* ,18, pp 3-11, 2001.

19 Barchowsky, A., Dudek, E. J., Treadwell, M. D., Wetterhahn, K. E. Arsenic induces oxidant stress and NF-kappa B activation in cultured aortic endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.*21:783–790; 1996.

20 Standevan A., Wetterhanh K. Ascorbate is the principal reductant of chromium (VI) in rat liver and kidney. *Carcinogenesis* 12, 1733-1737

21 S.J. Duthie, A. Ma, M.A. Ross, A.R. Collins, Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes, *Cancer Res.* 56 (1996) 1291–1295.

22 S.P. Boyle, V.L. Dobson, S.J. Duthie, D.C. Hinselwood, J.A.M. Kyle, A.R. Collins, Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study, *Eur.J. Clin. Nutr.* 54 (2000) 774–782.

23 The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study, The effect of Vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers, *N. Engl. J. Med.* 330 (1994) 1029–1035.

24 Park .M, Lee J., Kwak H., Rhee C., Chung H., Jin H. Arsenic trioxide inhibits invasion of HT 1080 human fibrosarcoma cells: role of nuclear factor - kappa B and reactive oxygen species. *Journ. Cellular Biochemistry* 95, 955-969.

25 Lee TC, Hu I. C. Cytotoxic effects of arsenic on human and animal cells. *Environ Health Perspect* 1994; 102:101-5.

26 A. Bub, B. Watzl, M. Blockhaus, K. Briviba, U. Liegibel, H. Müller, B.L. Pool-Zobel, G. Rechkemmer, Fruit juice consumption modulates antioxidant status, immune status and DNA damage, *J. Nutr. Biochem.* 14 (2003) 90–98.

27 P. Jaruga, B. Jaruga, D. Gackowski, A. Olczak, W. Halota, M. Pawlowska, R. Olinski, Supplementation with antioxidant vitamins prevents oxidative modification of DNA in lymphocytes . *Free Radic. Biol.Med.* 32 (2002) 414–420.

Резюме

Рассмотрены различные пути активации тяжелыми металлами сигнальных путей транскрипционного фактора NF-κB. NF- κB является важным регуляторным элементом, определяющим пролиферацию, выживание, дифференцировку и апоптоз клеток. Активация факторов транскрипции тяжелыми металлами, приводит к изменению экспрессии нескольких сотен генов, и соответственно, активности многих метаболических процессов. Многие антиоксиданты имеют анти-раковый, противовоспалительный эффект, что также было показано в ингибировании транскрипционного фактора NF-κB, которые применяются для терапевтических целей.

Summary

Ауыр металдардың транскрипциялық NF-κB ядролық фактордің қоздыратын әр түрлі сигнал жолдары көрсетілген. NF-κB транскрипциялық фактор жасушадағы маңызды реттеуші элемент болып табылады, ол жасушаның пролиферациясын, тірі қалуын және апоптозды анықтайды. NF-κB транскрипциялық фактордың ауыр металдармен активтендіргенде көптеген гендерді түрлендіреді, соған сәйкес әр түрлі метаболикалық процестерді активтендіреді. Анықталған көптеген антиоксиданттар қатерлі ісікке және ісіп қызару процесіне қарсы эффектілігі көрсетілген, сол NF-κB транскрипциялық фактордың блокадалау жолдарында көрсетілген мұны терапевтік мақсатта қолданылады.

**ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПОРОГИ ВОСПРИЯТИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ
РЕЦЕПТОРАМИ КОЖИ**

(Институт физиологии человека и животных ЦБИ КН МОН РК)

Обследована чувствительность рецепторов кожи у «южан» и «северян». Анализ полученных данных показал, что в основе различия в температуре кожи и восприятии холода может лежать разный уровень кожного метаболизма у них.

Ранее нами было показано, что температурные рецепторы кожи человека являются механочувствительными, распределены в коже в зонах преимущественной концентрации рецепторов определенных модальностей, которые меняют свои свойства в разные сезоны года [1]. В литературе приводятся сведения о возможных механизмах преобразования температурной энергии в электрический сигнал в температурных рецепторах [2,3]. Показано, что в основе этого явления заложена деятельность Na^+/K^+ электрического насоса. От его состояния зависит характер температурной информации, которую воспринимает рецептор (тепло или холод). В зависимости от изменения в субстанции концентрации ионов Na^+ , K^+ , Ca^{++} и др. меняются такие характеристики рецептора, как температурный порог, температурный оптимум активности, наличие или отсутствие динамического компонента в реакции. Холодовой рецептор может настолько изменить свои характеристики, что начинает работать в температурных пределах, свойственных тепловым рецепторам. Известно, что функциональное состояние описываемого насоса является высоко температурочувствительным [4-6]. Исходя из этих данных, мы предположили, что холодное воздействие, имеющее место при обливании холодной водой, изменит функциональное состояние рецепторного аппарата кожи человека, а все наблюдаемые при этом сдвиги в организме человека можно считать опосредованными – измененным функциональным состоянием рецепторов кожи.

В задачу нашей работы входило исследование порогов механического и температурного восприятия, температуры кожи, в динамике у здоровых людей обливающихся холодной водой. Это позволит говорить о механизмах действия этой процедуры на организм человека.

Материалы и методы

В течение исследования численность обследованной группы гвардейцев армии РК колебалась от 50 до 44 человек. Сравниваются данные, полученные у солдат до обливания, через полтора, три и шесть с половиной месяцев от его начала.

При анализе результатов исследований чувствительности кожи обследуемые были разделены на три группы:

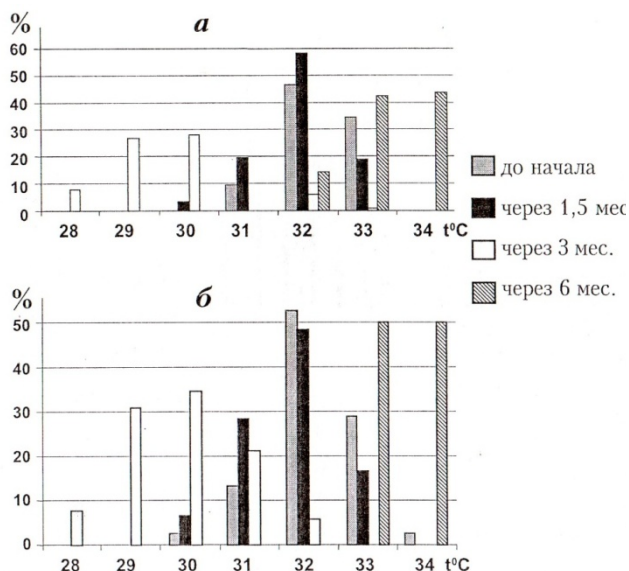
- 1) военнослужащие, проживавшие до призыва в армию в северных регионах Казахстана;
 - 2) военнослужащие, проживавшие до призыва в армию в южных регионах Казахстана;
- Обе эти группы солдат обливались холодной водой.
- 3) контроль, военнослужащие, ведущие обычный образ жизни.

Температурная чувствительность кожи оценивалась по величине порогов температурного восприятия в исследуемой точке кожи и значению температуры, вызывающей определенные ощущения при воздействии термодом площадью 4 см^2 . Любому из этих исследований обязательно предшествовало измерение температуры кожи в месте нанесения воздействия.

Результаты и их обсуждение

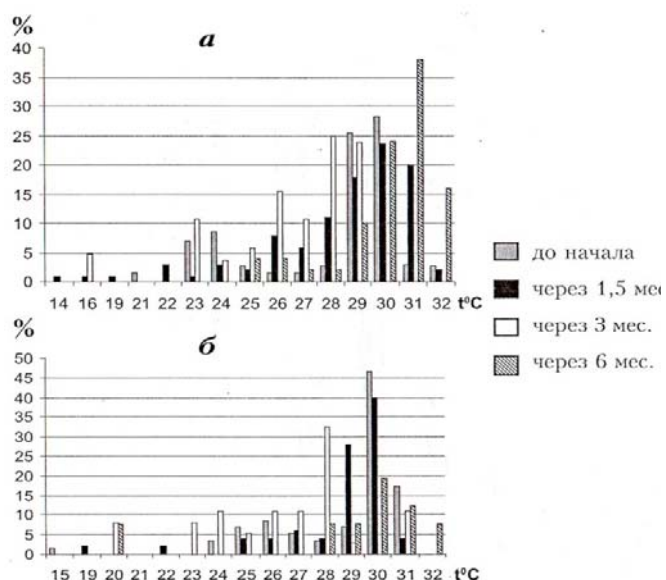
На рис.1 представлена температура кожи в области наружной поверхности нижней трети предплечья. Из рисунка видно, что до обливания, лица, приехавшие в Алматы из северных (а) и южных (б) областей страны различались по температуре кожи. Так, у «южан» наблюдался больший разброс в значениях и более высокая температура кожи. Через полтора месяца в обеих группах количество людей с температурой в 32°C уменьшилось за счет смещения значений температуры в более низкую сторону.

Через три месяца температура кожи предплечья у людей обеих групп понизилась еще больше, причем у определенного количества лиц появились значения в 29°C и даже 28°C . Через шесть с половиной месяцев температура кожи предплечья повысилась в обеих группах до значений, превышающих таковые до начала обливания). Однако, и в этом случае у южан она была выше и наблюдалась у большего процента обследованных.



(а – северяне, б – южане)

Рисунок 1 – Температура кожи у людей, обливающихся холодной водой в течение 6,5 месяцев



(а – северяне, б – южане)

Рисунок 2 – Температурный порог восприятия холода у людей, обливающихся холодной водой в течение 6,5 месяцев

На рисунке 2 представлены величины температурного порога восприятия холода. И в этом случае обращает на себя внимание различие между группами северян (а) и южан (б) до обливания холодной водой. У последних температура колебалась в диапазоне 30-31°C, тогда как у северян наблюдались в большем проценте случаев и более низкие значения. Через полтора месяца после начала обливания в обеих группах температуры, вызывающие ощущения холода в точке кожи, сместились в сторону меньших значений; через три месяца у северян температурный порог холода не превышал 29°C, а у южан значения в 29°C и 31°C наблюдались в очень малом проценте случаев. Через шесть с половиной месяцев в обеих группах обследованных уменьшился разброс значений пороговых величин температуры возникновения ощущений холода. В наибольшем проценте случаев у северян наблюдалась температура в 29-32°C, а у южан – в 30-31°C.

На рисунке 3 показаны температуры, которые вызывали ощущения холода на предплечье при площади воздействующего термода в 4 см².

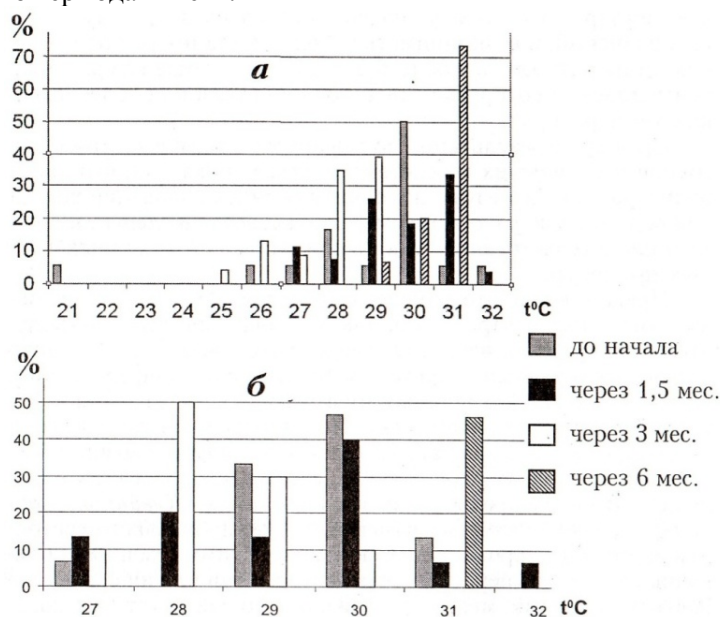


Рисунок 3 – Температурная чувствительность кожи предплечья к холоду у людей, живущих по системе «Детка» в течение 6,5 месяцев (а – северян, б – южан)

Такой площади воздействия достаточно, чтобы человек четко ощутил холод или тепло. И в этом случае северяне (**а**) отличались от южан (**б**) до обливания большим разбросом температур, а после применения системы закаливания у северян и у южан произошло смещение температур в сторону меньших значений; через три месяца у северян не встречалась температура выше 29°C, а у южан – выше 30°C. Через шесть с половиной месяцев у северян температура локализовалась в пределах 29-31°C, а у южан – в пределах 31-32°C. При этом, несмотря на различие в диапазонах температур, и в той и в другой группах наибольший процент людей ощущал холод при воздействии температурой в 31-32°C. Все приведенные данные на этих трех рисунках свидетельствуют о том, что после трех месяцев обливания температура кожи у людей сдвинулась в сторону меньших значений, и воспринимать холод они стали при более низких температурах, а после шести с половиной месяцев – температура кожи повысилась, и воспринимать холод они стали при более высоких значениях температуры.

Литература

- 1 Клейнбок И.Я., Габдуллина Е.Ж. Характеристика термомеханочувствительных рецепторов кожи животных и человека // *Нейрофизиология*, 1992. – Т.24, №3. – С. 314-320.
- 2 Pierau F.K. Possible transducer mechanisms of peripheral temperature receptors // *J. Therm. Biol.* – 1983. – V. 8, N 4. – P. 393-395.
- 3 Pierau F.K., Ulrich J., Tsuchiya K. Reception und Verarbeitung peripherer temperatursignale bei Warmblütern // *Arch. Exp. Veterinärmed.* – 1984. – Vol. 38, N 3. – P. 327-335.
- 4 Carpenter D.O. Membrane potential produced directly by the Na⁺ pump in *Aplysia* neurons // *Comp.Biochem.Physiol.* – 1970. – V. 35. – P.371-385.
- 5 Carpenter D.O., Ionic and metabolic bases of neural thermosensitivity // *Fed.Proc.* – 1981. – V. 40, N 14. – P.2808-2813.
- 6 Ritchie J.M., Staub R.M. The movement of potassium ions during electrical activity, and the kinetics of the recovery process in the non-myelinated fibres of the garfish olfactory nerve // *J. Physiol.* – 1975. – V. 249, N 2. – P.327-348.

Тұжырым

Терінің сезу рецепторлары «оңтүстік» және «солтүстік» тексерілді. Алынған мәліметтер, тері температурасының әртүрлігі және суықты қабылдау негізінде, олардың терідегі метаболизм деңгейі әртүрлі екендігін көрсетті.

Summary

Sensitivity of skin receptors of "southerners" and "northerners" is surveyed. The analysis of the received data has shown that at the heart of distinction in temperature of a skin and perception of a cold different level of a skin metabolism at them can lie.

Iskakova S.A.

BEHAVIOUR OF RATS IN THE RAISED CROSSWISE LABYRINTH DURING SUBCHRONIC EXTERMINATION BY THE STEAMS OF SULFUR

(The National Centre of Hygiene of the Labour and Occupational Diseases,
Ministry of Public Health, the Republic of Kazakhstan)

There were studied the behavior of white rats in the time of the inhalation by steams of sulfur in terms 1 and 2 months at a concentration 1,76mg/m³, 12,68mg/m³. Most expressed infringements were found out by physiological methods of research on 8 week of the extermination - reduction of research activity and of impellent activity, emotional reactance with increase in terms of inhalation are observed. From the behavior of experimental animals there were observed the pauperization of repertoire of behavioral reactions, infringement of mink reflexes of rodents, and also display of anxiolytic properties of sulfur steams in a concentration 1,76mg/m³.

I. Introduction. To begin with the development of scientific and technical progress in the Western Kazakhstan, oil layers with the high maintenance of sulphurous formations have started to master (Tengiz, Karashaganak), that has led to an increase of the lumped elementary sulfur's reserves on sulfuric platforms up to 9 mln.tons. It has increased ecological pressure on ecosystem of Caspian Sea's coasts, namely: the oxidation of ground and water, and to the pollution of atmospheric air by the steams of sulfur, sulphurous anhydride, sulfuric anhydride, sulfuric acid and hydrogen sulphide. In addition, sulfur from the area storages

evaporates rather easily under influence of environment's high temperatures (from 38°C and higher) in summertime as an aerosol or steam, forming eight-nuclear molecules that can have toxic effect on vivid organisms [1, 2].

II. Statement the purpose. Subsequently the purpose of our paper is studying the toxic action of steams of pure sulfur to the behaviour of experimental animals, in particular in the raised crosswise labyrinth (RCL). Studying of the inhalation's influence by the steams of sulfur in a concentration 1/3 maximum concentration limits (MCL) (1,76 mg/m³) and 2MCL (12,76 mg/m³) [3] (subchronic experiment within two months) has been executed on experimental animal - 30 white rats-male, with initial weight of a body 180-240 gramm. Experimental animals were exposed to the influence of the sulfur's steams during 5 days in a week and for 4 hours per day in special inhalation chambers of Kurljanskiy. The steams of elementary sulfur were received using the method of a sandy bath by Sanotskiy I.V. [4].

There was used one of the commodity forms of sulfur from the deposit Tengiz- technical gas granulated sulfur with a high degree of cleanliness (99, 99%) [5-8].

Experimental animals have been distributed on following groups, namely: I - the rats, which were exposed to inhalation influence of the sulfur's steams in a concentration 1,76 mg/m³ (n=15), II – rats, which were exposed to inhalation influence of the sulfur's steams in a concentration 12,68mg/m³ (n=15).

The installation "raised crosswise labyrinth" is intended for the estimation of the research behaviour's structure and the estimation of anxiousness of rodents. It has received wide application [14-17], because there is using the balance between natural fear of animals before the open space, height, novelty and simultaneous aspiration to investigate these unfamiliar conditions. All manipulations with animals were spent according to the international recommendations on carrying out medic-biological researches using the animals [9-10].

During the experiment physiological parameters were studied in dynamics. Dynamics was spent as follows: background supervision - prior to the beginning of the experiment, for the fourth week of the experiment and on the eighth week of the experiment. By means of test RCL we estimated parameters of research activity (RA), impellent activity (IA) and emotional reactance (ER) of rats for the estimation of behavioural reactions. The estimation of parameters RA included incline reaction (IR), the look out from the closed sleeves (L). Besides, time of stay in closed sleeve of the labyrinth (TSC), time of staying in the open sleeve of the labyrinth (TSO) was defined. The estimation of parameters IA included VIA (a rack with an emphasis, the rack), ER included grooming (G), urination (U) and defecation (D). There were also spent the definition of muscular force (MF).

Results are processed statistically using the spreadsheet Microsoft Excel by the definition of average arithmetic (M) and its standard mistake (m), the degree of reliability of distinctions between compared sizes was defined by Student criterion.

III. Results. Chronic influence of the sulfur's steams leads to the infringement of a normal physiological addition in weight growing and muscular force with an increase in age of animals that is connected with the toxic influence of the sulfur's steams and process of the reorganization of exchange reactions with the purpose of the adaptation, and with prevalence of processes of catabolism.

The sulfur's steams render an adverse influence on the infringement of behavioural reactions of animals. In figure 1 changes IA rats of II group, who have been influenced by the sulfur's steams in a concentration 1,76 mg/m³, are presented.

Analyzing obtained data in two experimental groups, we have noted heterogeneousness of whole toxic process, except for the test of muscular force. RA shows the most precise tendency to downturn in the second group at a concentration 12,68 mg/m³ 4 week of supervision on 64,6%, while IA at 8 of week in 74% at the same time ER has a tendency to increasing at inhalation terms prolongation. In particular, on 4 week of supervision IA at the subchronic inhalation of sulfur's steams in a concentration 1,76 mg/m³ decreases slightly on 11%, while on 8 week it increases for 167% in comparison with background parameters. At subchronic inhalation by steams of sulfur in a concentration 12,68 mg/m³ on 4 week there was marked an increase of IA on 30%, whereas on 8 week this parameter decreased on 74% in comparison with background indexes (p<0,001).

Apparently, it is connected with the greater toxic action of small dozes of sulfur in comparison with action of a doze, which is practically twice exceeding active maximum concentration limit. Probably the guarding braking was progressively developing because of the weakening of functional ability of nervous cells. All received results are coordinated with the literary data [11, 12], where the correlation between levels of rats' stability to deficiency of oxygen and their impellent activity in the raised crosswise labyrinth is established.

Research activity in two experimental groups decreased: on 4 week on 64%, on 8 week of supervision on 94% in comparison with background parameters at subchronic inhalation in a concentration 1,76 mg/m³; on 4 week on 129%, on 8 week of supervision on 84% in comparison with background parameters at subchronic inhalation by sulfur's steams in a concentration 12,68 mg/m³ (p<0, 005).

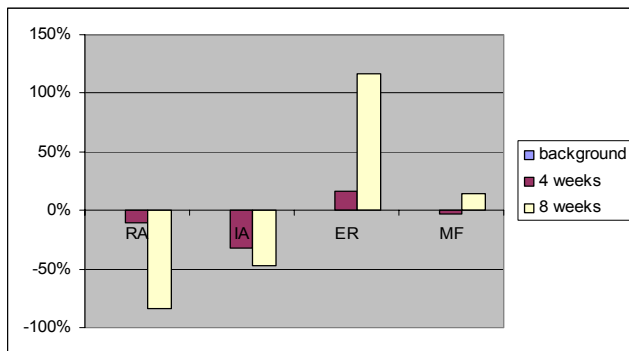


Figure 1 - Dynamics of changes of physiological parameters at subchronic influence by the steams of sulfur in a concentration 1,76mg/m³

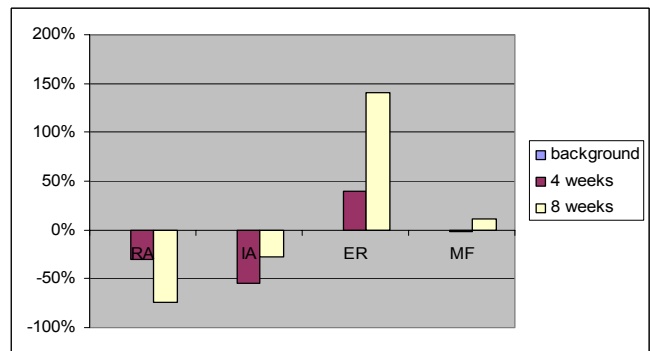


Figure 2 - Dynamics of changes of physiological parameters at subchronic influence of sulfur's steams in a concentration 12,68mg/m³

Furthermore, figure 1 shows the dynamics of change of parameters ER of rats at subchronic influence by the steams of sulfur, which is measured in percentages. While ER increased to 16% on the fourth week of the experiment on eighth week increased in 117% in comparison with, with background indexes at a concentration 1,76 mg/m³ at subchronic inhalation by the steams of sulfur (p<0, 001). It is important to take into the account the fact that ER increased on eighth week due to the grooming.

As you can see from the bar chart, since the fourth week of supervision rats at subchronic inhalation by steams of sulfur in a concentration 12,68 mg/m³ had substantial growth of ER to 40%, whereas it had a moderate decrease to 141% on 8 week in comparison to the background indexes (p<0,005), additionally due to an increase of grooming movements (figure 2), that give evidence about processes of animals' adaptation to a new conditions and confirm with the reduction of impellent activity in the second group. Livanova L.M., Lukjanova L.D. have revealed a feedback between impellent activity and emotional reactivity that we corroborate in our work too [12].

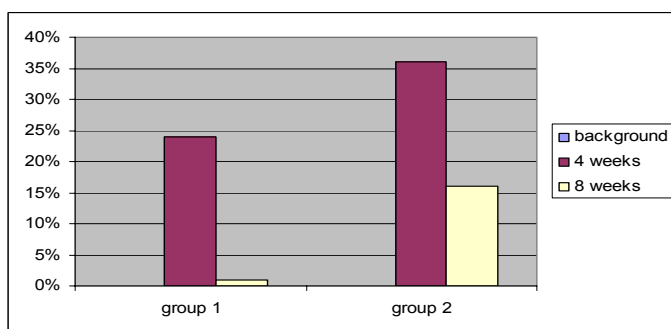


Figure 3 - Dynamics TSC of rats at subchronic influence of sulfur's steams

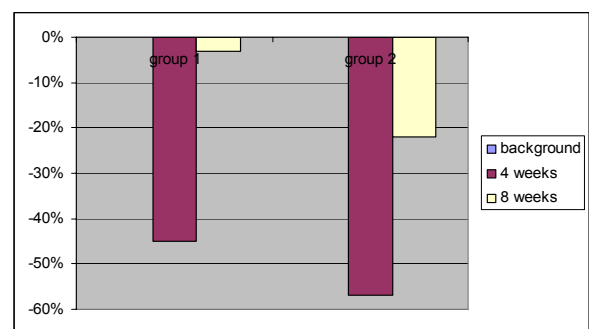


Figure 4 - Dynamics TSO of rats at subchronic influence of sulfur's steams

Also we studied the time of staying of rats in the open and closed sleeve of the labyrinth depending on a dose of subchronic inhalation by steams of sulfur in the test "the raised crosswise labyrinth" (figure 3, 4).

We have established that subchronic action of sulfur's steams in a concentration 1,76 mg/m³ leads to an increase of TSC on 24% on 4 week of supervision, whereas it leads to the reduction of TSC to the background indexes on 8 week of the research. While the influence of subchronic inhalation of sulfur's steams in a concentration 12,68mg/m³ leads to reduction of TSC on 4 week by 45%, on 8 week of supervision it leads to the fall on 11% in comparison with background parameters (p<0,001).

It is the fact that animal visits the open sleeves of the raised crosswise labyrinth (RCL) seldom because of the fear about the open and shined space. Number of visits to the open sleeves of RCL as well as time of their staying there is considered as the parameters, which testify about the anxiousness of an animal [13-16].

Whereas subchronic influence of sulfur's steams in a concentration $1,76 \text{ mg/m}^3$ leads to the reduction of TSO by 45% on 4 week, TSO increases to the background indexes on 8 week of supervision. At subchronic influence by steams of sulfurs in a concentration $12,68 \text{ mg/m}^3$ parameters of TSO decrease on 4 week of supervision for 60% ($p < 0,05$), and it fell on 8 week on 28% respectively in comparison with the background parameters.

As regards muscular force of experimental animals, on 4 week of experiment it decreased for 3% and 2% accordingly depending on an increase of a concentration of inhalation by steams of sulfur, but in contrast on the eighth week of the experiment is increased for 14% and 11% respectively that, apparently, is a consequence of processes of the adaptation to the toxicant during all considering experiment.

IV. Conclusions.

1. The steams of sulfur, which get into the organism of experimental animals during an inhalation, cause toxic action.

2. For the first time it is established that subchronic extermination of sulfur's steams in a concentration $1,76 \text{ mg/m}^3$ causes more expressed infringements of experimental animals' behaviour that is provided by "the effect of small dozes"

3. For the first time it is established subchronic extermination of sulfur's steams in a concentration $1,76 \text{ mg/m}^3$ causes anxiolytic effect on experimental animals on 8 week of supervision that is based on the reduction of their anxiety up to background induces identifiy by time of staying in the open sleeve of the labyrinth.

Literature

1 Брили́нский Л.П. К вопросу оздоровления условий труда рабочих, занятых добычей и переработкой самородной серы.// В кн.: «Актуальные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены». – Львов.-1965.-С.60-61.

2 Кузиев Р.С., Алексеевич Я.И. Состояние здоровья рабочих, занятых добычей серы.// Факторы внешней среды и их влияние на здоровье населения. - Киев.-1970.-Вып№2.-С.51-55.

3 Временные методические указания по обоснованию предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. – М.,1988.-108с.

4 Сангалов Ю.А., Дмитриев Ю.К., Маталинов В.И. и др. Газовая сера.//Вестник Башкирского университета.-2004.-№2.-С.31.

5 Менковский М.А.// В кн.: «Природная сера». - М: Химия, 1972.-240с.

6 Менковский М.А., Яворский В.Т.// В кн.: «Технология серы». - М: Химия, 1985.-328с.

7 Грунвальд В.Р. //В кн.: «Технология газовой серы». - М: Химия, 1992.-272с.

8 Санюцкий И.В.//в кн.: Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсиметрия). -М: Медицина,1970.-С.84-85.

9 Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. №742 от 13.11.1984 г.

10 Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных //Хроника ВОЗ.-1985.- Т.39, №3.- С.-3 – 9.

11 Ливанова Л.М., Айрапетянц М.Г., Гермонова Э.Л., Лукьянова Л.Д. Долгосрочное влияние однократной острой гипоксии на поведение крыс с разными типологическими особенностями //Журнал высшей нервной деятельности.- 1993.- Т.43, С. 157 - 163.

12 Ливанова Л.М., Лукьянова Л.Д., Торшин В.М. Влияние длительной адаптации к гипоксии на поведенческие реакции в открытом поле крыс с разным типом поведения // Журнал ВНД.- 1993.- Т.43, №4.- С. 808 -816.

13 Зарубина А.П., Калугев А.В., Ашмарин И.П. О принципиальных различиях стратегий лечебного действия антибиотиков и эндогенных защитных веществ макроорганизма. //Вестник МГУ, Сер. Биология.-1994.-№1.-С.11-26.

14 Dawson G.R., Tricklebank M.D. Ethological analysis may not be the answer to the problems of the elevated plus-maze // Tr. Pharmacol. Sci.-1995.-V.16P.261.

15 Dawson G.R., Tricklebank M.D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents //Tr. Pharmacol. Sci.- 1995.-V.16.-P.33-36.

16 Lippa A.S., Nash P.A., Greenblatt E.N. Preclinical neuropsychopharmacological testing procedures for anxiolytic drug: In: industrial Pharmacology (5.3,Anxiolytics), Eds S.Fielding, H.Lal, Futura Publishing Company, New York, 1979, P.41-66.

Резюме

Изучали поведение белых крыс при ингаляционной затравке парами серы в сроки 1 и 2 месяца при концентрации $1,76 \text{ mg/m}^3$, $12,68 \text{ mg/m}^3$. Физиологическими методами исследования обнаружили

наиболее выраженные нарушения на 8 неделе затравки – наблюдаются уменьшение исследовательской активности и двигательной активности, эмоциональной реактивности с увеличением сроков ингаляции. Со стороны поведения экспериментальных животных наблюдается обеднение репертуара поведенческих реакций, нарушение норковых рефлексов грызунов, а также проявление анксиолитических свойств паров серы в концентрации 1,76мг/м³.

Тұжырым

Ақ егеуқұйрықтардың қарапайым күкіртпен 1 және 2 ай мерзімінде 1,76мг/м³, 12,68мг/м³ концентрацияда тыныс жолдары арқылы дем алдыру кезіндегі мінез-құлқы зерттелген. Физиологиялық зерттеу әдістерімен уландырудың аптасында келесі айқын бұзылыстарды анықтадық: ингаляция мерзімінің ұзаруымен зерттеу белсенділігінің төмендегені және қозғалыс белсенділігі мен көңіл-күй реактивтілігінің күшеюі. Тәжірибелік жануарлардың мінез-құлқы жағынан мінез-құлық реакцияларының бәсеңдеуі, кемірушілердің індік рефлексстердің бұзылысы, сонымен қатар 1,76мг/м³ концентрацияда қарапайым күкірт буларының анксиолитикалық қасиеттерінің көрініс тапқаны анықталды.

УДК: 631.95:636.087.74: 636.5.034

Макеева Л.А.

О РОЛИ СМЕСИ ПОЛИМЕРОВ НА ЯЙЦЕНОСКОСТЬ КУР КРОССА «ОМСКИЙ БЕЛЫЙ»

(Кокшетауский университет им. Абая Мырзахметова)

Использование кормовых добавок: смеси казеината натрия и поливинилового спирта, смеси желатина и поливинилового спирта в основном рационе цыплят стартового периода развития, влияние их на яичную продуктивность кур.

Разведение разных видов сельскохозяйственной птицы для получения высокопитательных продуктов (яиц, мясо) – основная задача птицеводства на сегодняшний день. Установлено, что уровень, характер и качественная сторона продуктивности зависит от наследственных факторов (вида, породы, линии, кросса, индивидуальных особенностей), пола, возраста птицы, а также условий ее содержания и кормления [1-2].

Одним из показателей продуктивности является яичная продуктивность – это основной селекционируемый признак и решающий показатель не только птицы яичного направления, но и птицы мясного направления [3]. Яичная продуктивность тесно связана с использованием в птицеводстве сбалансированных по всем питательным веществам рационов [4].

В ходе проведения эксперимента мы изучили рост и развитие цыплят контрольного и экспериментального вариантов до половозрелового возраста и их яйценоскость.

Поступая в организм птицы с комбикормами, загрязненные корма являются причиной хронических отравлений. Это приводит к замедлению роста и развития молодняка, снижению потребления корма [5].

В стартовый период развития цыплят происходит основной падеж птицы по причине заболевания специфическими для них болезнями [6].

Материалы и методы

Исследования проводились на базе ТОО «Бишкульская птицефабрика» Северо-Казахстанской области (Республика Казахстан) были проведены научно-хозяйственные опыты на цыплятах кросса «Омский белый» в 2005-2008 гг.

Целью нашего исследования явилось изучение влияния кормовых добавок: смеси казеината натрия и поливинилового спирта и смеси желатина и поливинилового спирта в основных рационах на рост и развитие цыплят кросса «Омский белый» стартового периода развития до половозрелового возраста, а также влияния их на яйценоскость.

В премиксе в основной рацион кормления опытных вариантов вводили экологически безопасные кормовые добавки: смесь казеината натрия с поливиниловым спиртом, смесь желатина с поливиниловым спиртом (в количестве 0,02 % (7 мг) от живой постановочной массы одного цыпленка) в разных соотношениях. Смеси предварительно растворяли в воде, а затем добавляли в кормосмесь.

Для проведения первого опыта методом случайной выборки сформировали 4 варианта цыплят суточного возраста по 3300 голов. Первый вариант – контрольный, второй, третий и четвертый

варианты – опытные. Эксперимент проводился по следующей схеме: 1 вариант - рацион, принятый в хозяйстве; 2 вариант – к основному рациону добавили смесь казеината натрия с поливиниловым спиртом в соотношении 1:2, 3 вариант – к основному рациону добавили смесь казеината натрия с поливиниловым спиртом в соотношении 2:1, 4 вариант – к основному рациону добавили смеси казеината натрия с поливиниловым спиртом в соотношении 1:1.

Для проведения второго опыта методом случайной выборки сформировали 4 варианта цыплят суточного возраста по 3300 голов. Эксперимент проводился по следующей схеме: 1 вариант - рацион, принятый в хозяйстве; 2 вариант – к основному рациону добавили смесь смеси желатина с поливиниловым спиртом в соотношении 1:2, 3 вариант – к основному рациону добавили смесь желатина с поливиниловым спиртом в соотношении 2:1, 4 вариант – к основному рациону добавили смесь желатина с поливиниловым спиртом в соотношении 1:1.

Условия содержания: световой, температурно-влажностный режим, плотность посадки, поение, кормление для всех вариантов были одинаковыми и соответствовали Методическим рекомендациям по работе с птицей кросса «Омский белый», селекции Западносибирской зональной опытной станции по птицеводству [7].

Продолжительность экспериментального периода была 35 дней.

Казеинат натрия – основное производное казеина, составляющего 80 % от основного белка молока млекопитающих. Казеин – натуральный фосфопроteid, состоящий из нескольких компонентов отличных по аминокислотному составу, электрофоретической подвижности, содержанию фосфора, отношению к ионам кальция, сычужному ферменту и другим свойствам. Нами использовался казеинат натрия, выпускаемый в соответствии с требованиями ТУ 49721-85 [8-9].

Желатин – это денатурированная форма фибриллярного белка коллагена, играющего важную роль в структурно-механических свойствах костей, кожи, соединительной ткани. В работе использовался пищевой желатин с влажностью 15 %, зольностью 2 % и молекулярной массой 70 000. Предприятия Госагропрома выпускают желатин пищевой в соответствии с ГОСТом 11293-78 [10-12].

В качестве синтетического полимера был использован поливиниловый спирт. Специальные марки тщательно очищенного низкомолекулярного поливинилового спирта применяются в качестве плазмозаменителей при переливании крови, а также для изготовления лекарственных препаратов «Иодинал». Для работы применялся тщательно очищенный низкомолекулярный поливиниловый спирт, имеющий следующие характеристики: молекулярную массу - 100000; влажность - 10%; зольность - 0,01% [13].

Результаты и их обсуждение

В течение экспериментального периода ежедневно проводили наблюдения за клиническим состоянием цыплят. Замечено также, что цыплята в опытных вариантах мало подвержены специфическим для них болезням, имели интенсивную окраску пушка, ярко желтый клюв и плюсны ног, а также быстро реагировали на внешние раздражители (свет, звук), хорошо поедала корм. Это являлось хорошими признаками развития цыплят.

Цыплята контрольного варианта были менее подвижны, хуже поедали корм, бледный цвет клюва и ног. Были подвержены различным заболеваниям, в частности – понос.

Результаты производственной проверки, проведенные на ТОО «Атай-СК» Северо-Казахстанской области Республики Казахстан показали, что начиная с шести недельного возраста, цыплятам опытного варианта исключили введение в основной рацион смеси казеината натрия и поливинилового спирта и смеси желатина и поливинилового спирта.

Наши исследования показали, что яичная продуктивность кур несушек в контрольном и экспериментальных вариантах была неодинаковой.

Первая кладка яиц была отмечена во всех группах в возрасте 21-22 недели. 25% уровня яйценоскость достигла во втором опытном варианте, который получал в стартовый период кормовую добавку, состоящую из смеси казеината натрия и поливинилового спирта (ПВС) в 147 суток, а вариант, где использовалась смесь: желатин и поливинилового спирта в 149 суточном возрасте. В контрольном варианте на этот показатель птица вышла в 153-х суточном возрасте. Курочки контрольного варианта 50 % яйцекладки достигли в 176-суточном возрасте, а в экспериментальных вариантах (казеинат натрия и ПВС, желатин и ПВС) – 157 и 159-суточном возрасте соответственно. Интенсивность яйцекладки кур несушек показана в таблице 1 и 2.

Таблица 1 – Интенсивность яйцекладки кур несушек кросса Омский белый (кормовая добавка казеинат натрия и ПВС), %

Возраст несушек, недель	Варианты			
	1 (контроль)	2 (1:2)	3 (2:1)	4 (1:1)
21	18,2±0,079	24,8±0,058	22,8±0,063	23,6±0,061
23	52,2±0,017	56,4±0,0166	54,3±0,0162	55,1±0,0159
27	78,5±0,0154	84±0,0144	81,6±0,0149	83,2±0,0146
31	80,4±0,0155	86,2±0,0145	83,1±0,0150	84,8±0,0147
35	79,6±0,0199	87,1±0,0181	83,6±0,0189	85±0,0186
38	75,8±0,0270	85,6±0,0239	81,4±0,0252	82,6±0,0248
42	73,6±0,0279	83,3±0,0246	79,9±0,0257	80,1±0,0256
За период опыта	65,47±0,0313	72,49±0,0282	69,53±0,0295	70,63±0,0290

В течение продуктивного периода интенсивность яйцекладки по контрольному варианту составила 65,47 %, а в опытных во втором варианте 72,49 %, в четвертом - 70,63 %, в третьем - 69,53 %. Наибольшая интенсивность яйцекладки была во втором варианте, где в стартовый период в основной корм в качестве кормовой добавки использовалась смесь, состоящая из казеината натрия и ПВС в соотношении 1:2.

В случае применения кормовой добавки, состоящей из смеси желатина с поливиниловым спиртом, интенсивность яйцекладки во втором варианте составила 72,66 %, в четвертом – 70,69, в третьем – 69,43, а в контрольном – 65,4 %. Материалы таблицы свидетельствуют о том, что яйценоскость кур в опытных вариантах выше, чем в контрольном.

Таблица 2 – Интенсивность яйцекладки кур несушек кросса Омский белый (кормовая добавка желатин и ПВС), %

Возраст несушек, недель	Варианты			
	1 (контроль)	2 (1:2)	3 (2:1)	4 (1:1)
23	52,4±0,0179	56,9±0,0165	54,5±0,0173	55,4±0,0169
27	78,1±0,0183	84,6±0,0169	81,8±0,0175	83,6±0,0171
31	80,2±0,0162	86,3±0,0150	83±0,0156	84,6±0,0153
35	79,4±0,0203	87±0,0185	83,2±0,0193	84,9±0,0189
38	75,7±0,0266	85,3±0,0236	81±0,0249	82,5±0,0244
42	73,7±0,0283	83,8±0,0249	79,6±0,0262	79,9±0,0261
За период опыта	65,4±0,0318	72,66±0,0287	69,43±0,0299	70,69±0,0295

Самый высокий уровень яйценоскости у кур несушек во втором опытном варианте, получавшем кормовую добавку, состоящую из смеси желатина и ПВС в соотношении 1:2.

Следовательно, использование смеси биополимера с синтетическим в качестве кормовой добавки (казеинат натрия и ПВС, желатин и ПВС) в рационах цыплят стартового периода в период развития оказывает стимулирующее влияние в последствие на их половое созревание и повышает интенсивность яйцекладки.

Второй по значимости селекционный признак, имеющий наибольшее экономическое значение при производстве яичной продукции, - масса яиц. Согласно данным П.П. Царенко масса яиц на 55 % определяется генетическими факторами и на 45 % зависит от рациона и условия содержания птицы [14]. Использование в основной корм кормовой добавки, состоящей из смеси био и синтетического полимеров (казеината натрия и ПВС, желатина и ПВС) положительно сказалось на массе яиц, полученных от кур несушек опытных групп кросса «Омский белый» за период опыта (таблица 3).

Из данных таблицы видно, что с увеличением возраста курочек увеличилась и средняя масса яиц. В начале яйцекладки (в 21-ом возрасте) контрольная средняя масса яйца в контрольном варианте составила 51,2 г, то во втором варианте 54,4 г (6,25 %), в четвертом – 53,8 г (5,1 %), в третьем – 51,9 г (1,4 %). В самый интенсивный период яйцекладки (35 недель) в контрольном варианте масса яйца увеличилась до 61,8 г, в опытных вариантах: во втором до 65,9 г (6,6 %), в четвертом до 65,3 г (5,7 %), в третьем до 63,9 г (3,4 %).

Из полученных данных следует, что наибольшее увеличение массы наблюдается во втором варианте, в которой куры несушки получали в стартовый период развития кормовую добавку (казеинат натрия и ПВС) к основному рациону в соотношении 1:2.

Таблица 3 – Динамика массы яиц (кормовая добавка казеинат натрия и ПВС), г

Возраст несушек, недель	Варианты			
	1 (контроль)	2 (1:2)	3 (2:1)	4 (1:1)
21	51,2 ± 0,0148	54,4 ± 0,0139	51,9 ± 0,0146	53,8 ± 0,0141
23	52,6 ± 0,0213	57,8 ± 0,0194	55,1 ± 0,0203	56,6 ± 0,0198
27	54,2 ± 0,0444	64,9 ± 0,0371	61,9 ± 0,0389	63,7 ± 0,0378
31	57,8 ± 0,0338	57,8 ± 0,0338	63,6 ± 0,0307	65 ± 0,0299
35	61,8 ± 0,0147	65,9 ± 0,0138	63,9 ± 0,0142	65,3 ± 0,0139
38	61,4 ± 0,0092	63,7 ± 0,0088	61,6 ± 0,0091	63,1 ± 0,0089
42	60,1 ± 0,0094	62,6 ± 0,0090	61 ± 0,0092	62,2 ± 0,0090
В среднем за период опыта	57,01 ± 0,0099	62,11 ± 0,0090	59,86 ± 0,0094	61,39 ± 0,0092

Аналогично изучалась масса яиц кур несушек, где в качестве кормовой добавки использовался желатин и ПВС (таблица 4).

Скармливание в стартовый период развития кур несушек кросса Омский белый кормовой добавкой (желатин и ПВС) сказалось положительно на массе яиц. Если в начале яйцекладки (в 21-ом возрасте) контрольная средняя масса яйца в контрольном варианте составила 51,4 г, то во втором варианте 54,8 г (6,6 %), в четвертом – 53,9 г (4,9 %), в третьем – 53,1 г (3,3 %). В возрасте 35 недель (интенсивность яйцекладки) средняя масса яйца у несушек контрольном варианте увеличилась до 61,6 г, а во втором варианте до 66,4 г (7,8 %), в четвертом – до 65,6 г (6,5 %), в третьем – до 64,8 (5,2 %) г.

Во втором опытном варианте эти показатели значительно выше, чем во всех остальных. Особенно это заметно в 35-ти недельном возрасте. По сравнению с контролем она выше на 5,4 %, а к спаду яйцекладки – на 2,5 %. В третьей и четвертой опытных группах масса яиц по сравнению с контролем также выше в четвертом варианте на 1,6 %, а в третьем – 0,9 %.

Таблица 4 – Динамика массы яиц (кормовая добавка желатин и ПВС), г

Возраст несушек, недель	Варианты			
	1 (контроль)	2 (1:2)	3 (2:1)	4 (1:1)
21	51,4 ± 0,0140	54,8 ± 0,0132	53,1 ± 0,0136	53,9 ± 0,0134
23	52,5 ± 0,0249	58,2 ± 0,0225	57,2 ± 0,0229	57,6 ± 0,0227
27	54,5 ± 0,0465	65,4 ± 0,0388	63,9 ± 0,0397	64,4 ± 0,0394
31	57,9 ± 0,0295	65,5 ± 0,0264	64 ± 0,0269	64,6 ± 0,0268
35	61,6 ± 0,0169	66,4 ± 0,0157	64,8 ± 0,0161	65,5 ± 0,0159
38	61,1 ± 0,0098	63,9 ± 0,0094	61,8 ± 0,0097	62,6 ± 0,0096
42	60,2 ± 0,0099	62,7 ± 0,0096	61,1 ± 0,0098	61,8 ± 0,0097
В среднем за период опыта	57,03 ± 0,0105	62,41 ± 0,0096	60,84 ± 0,0099	61,49 ± 0,0098

Таким образом, использование кормовых добавок: смеси биополимера с синтетическим (казеинат натрия и ПВС, желатин и ПВС) в течение стартового периода развития (1-35 дней) усиливала рост и развитие цыплят, уменьшала специфические заболевания в стартовый период их выращивания, так как в этот период происходит основной падеж птицы при заболевании специфическими для них болезнями.

Смеси обладают адаптогенным действием, снижает стрессовый эффект, улучшает общепфизиологическое состояние организма цыплят, способствуют более эффективному развитию

птицы, что в конечном итоге положительно влияет на такой показатель как интенсивность яйцекладки и масса яиц.

Литература

- 1 Кочиш И.И. *Птицеводство* / И.И. Кочиш, М.Г. Петраш, С.Б. Смирнов. – М.: КолосС, 2004. – 407 с.
- 2 Фисинин В.И. *Оценка качества кормов, органов, тканей, яиц и мяса птицы: Методическое руководство для зоотехнических лабораторий* / В.И. Фисинин, А.Н. Тищенко, А.Н. Егоров [и др.]. – Сергиев Посад, 2007. – 114 с.
- 3 Мамонтова И.В. *Изучение периода образования яйца в связи с повышением яйценоскости и качества яиц* / И.В. Мамонтова // *Повышение продуктивности сельскохозяйственной птицы*. – М.: ВАСХНИЛ, 1979. – 261 с.
- 4 Сметнев С.И. *Повышение качества пищевых яиц при интенсивном птицеводстве* / С.И. Сметнев // *Повышение качества пищевых яиц*. – М.: ВАСХНИЛ, 1976. – 212 с.
- 5 Просвирякова О. *Кормовая добавка «Сорбент-стимулятор»* / О. Просвирякова, М. Полянский, В. Меньщиков // *Птицеводство*. – 2006. – № 1. – С. 8–9.
- 6 Фисинин В.И. *Оценка качества кормов, органов, тканей, яиц и мяса птицы: Методическое руководство для зоотехнических лабораторий* / В.И. Фисинин, А.Н. Тищенко, А.Н. Егоров [и др.]. – Сергиев Посад, 2007. – 114 с.
- 7 Давыдов В.М. *Кросс яичных кур «Омский белый»* / В.М. Давыдов, А.Б. Дымков, А.Б. Мальцев, И.П. Спиридонов; ГНУ «СибНИИП» // *Рациональное использование кормовых ресурсов и генетического потенциала сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр., посвященный 100-летию со дня рождения Ф.М. Кохомского*. – Омск, 2004. – С. 58–67.
- 8 Смоляков А.В. *Перспективы использования молочнокислой добавки в птицеводстве. Кормовые добавки* / А.В. Смоляков; ГНУ СибНИИПТИП // *Питц. Экология. Качество: Тр. III Международной научно-практич. конф.* – Новосибирск, 2003. – С. 143 – 151.
- 9 Korpaszewski W. *Gelification of casein in comparison with gelification of milk*. *Zait*, 16. p. 801-810.
- 10 Усманов Х.У. *Химия и физикохимия природных и синтетических полимеров* / Х.У. Усманов, М.А. Аскарова. – Ташкент: Узбекистан, 1984. – 136 с.
- 11 Бектуров Е.А. *Синтетические и водорастворимые полимеры в растворах* / Е.А. Бектуров. – Алма-Ата: Наука, 1981. – 248 с.
- 12 Триерс И.В. *Технологический и бактериологический контроль в клеевой ТЗ8 и желатиновой промышленности: Справочник* / И.В. Триерс, Р.А. Долматова, З.В. Хохлова, С.Л. Кобякова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 303 с.
- 13 Элиас Г.-Г. *Мегамолекулы: Рассказы о клеях, хлебе, бриллиантах, яйцах, волокнах, пене, желатине, коже, мясе, пластинках, копиров, слоях, каучуках ... капусте* / Г.-Г. Элиас; Пер. с англ. Е.Э. Паишевского, Т.Г. Литвиновой; Под ред. [с предисл.] С.Я. Френкеля. – Л.: Химия Ленинградское отд-ние, – 1990. – 271с.
- 14 Царенко П.П. *Повышение качества продукции птицеводства: пищевые и инкубационные яйца* / П.П. Царенко. – Л.: Агропромиздат: Ленинградское отделение, 1988. – 240 с.

Тұжырым

Жемдік қосындылар: желатин қоспасы және поливинил спирті, натри казеинаты қоспасы және поливинил спиртінің балапандардың бастапқы даму кезеңіндегі негізгі рационына қосу арқылы, тауықтардың жұмыртқалық өнімділігіне әсері зерттелген.

Summary

The use of fodder additives: the mix of gelatin and polyvinyl alcohol, the mix of sodium caseinate and polyvinyl alcohol in the main diet of the chickens in the starting period of development, its influence on the hens' egg productivity.

УДК 615.916:546.815/.819.099.015.44.076.9

Тулеуханов С.Т., Атанбаева Г.К., Мохасеб М.А., Бактыбаева Л.К., Маутенбаев А.А.

КОНТАКТНОЕ И ОПОСРЕДОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ИНФРАЗВУКА НА ЛЕЙКОЦИТЫ КРОВИ КРЫС

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби)

Контактное однократное облучение крыс инфразвуком в течение 3 минут приводит к приобретенному иммунодепрессивному синдрому. Однократное введение воды, однократно облученной инфразвуком в течение 3 минут, приводит к увеличению лейкоцитарного индекса за счет увеличения количества миелоцитов, моноцитов и базофилов.

Известно, что источником инфразвука являются мощные крупногабаритные машины и механизмы (железнодорожные локомотивы, составы, тяжелый грузовой транспорт, взлет самолетов, реактивные двигатели), турбулентные потоки газов и жидкостей, вентиляционные системы, которые являются неотъемлемой частью жизни людей в крупных городах. Действие инфразвука сравнительно низкой интенсивности изучалось и на животных, и на человеке. Так, группа под руководством проф. Н.И.Карповой в 1973 г. проводила эксперименты по действию инфразвука частотой 10 Гц и уровнем 136 дБ на организм практически здоровых мужчин в возрасте от 20 до 25 лет с нормальным слухом при 50-минутной экспозиции. После прекращения действия инфразвука уровень слуховой чувствительности восстанавливался полностью до исходных значений лишь на высоких частотах, а на низких и средних частотах – частично. Обнаружены существенные изменения в периферическом кровообращении. Выявлены патологические изменения со стороны центральной нервной системы и внутренних органов. Установлено появление дистрофических изменений в отдельных отделах головного мозга. Выбранная в описанных экспериментах частота 10 Гц не является специфичной для организма человека. Анализ имеющихся экспериментальных данных позволяет заключить, что в области инфразвука существует участок спектра, представляющий максимальную опасность из-за резонансных явлений внутренних органов. Эта область 6–8 Гц (в некоторых источниках частота 7 Гц считается смертельной для человека при соответствующих уровнях звукового давления). Прямые исследования в столь опасной области при больших интенсивностях инфразвука либо вообще отсутствуют, либо проводились, но по вполне понятным причинам их результаты не публиковались [1,2,3]. Практически нет данных о действии инфразвука в слабых и сверхслабых дозах в течение короткого промежутка времени на количественные и качественные показатели иммунных клеток.

Целью нашего исследования явилось изучение воздействия инфразвуковых волн в диапазоне от 13 до 30 Гц с мощностью 5 дБ при контактном и опосредованном облучении животных, путем перорального введения облученной инфразвуком воды.

Материалы и методы

В эксперименте было использованы 4–5-ти месячного возраста 30 белых беспородных половозрелых крыс обоего пола массой 200-250 г. Методы: общепринятая методика подсчета общего лейкоцитарного показателя в камере Горяева, лейкограмма крови подсчитывалась на мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза. Математическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программе Windows Excell.

Облучение животных и воды проводили инфразвуковой терапевтической установкой ИФС-1, сконструированной О.А. Казаковым, с выходом звуковых колебаний от 13 до 30 Гц с мощностью 5 дБ [4].

Животных поделили на три группы по 10 особей в каждой: 1 - контактное однократное облучение инфразвуком в течение 3 минут, 2 - однократное пероральное введение воды, облученной однократно инфразвуком в течение 3 мин., 3 - интактные животные. Забор крови проводили до проведения эксперимента (контроль) и на 3, 6, 12, 32 сутки после облучения.

Результаты и их обсуждение

1. Результаты по группе животных с контактным облучением инфразвуком. Общий лейкоцитарный индекс на 3 сутки наблюдения после облучения был аналогичен контролю и составлял $15212,0 \pm 937,5$ кл/мкл. Но лейкограмма периферической крови показала тяжелый иммунодепрессивный синдром с выходом незрелых предшественников полинуклеаров до 15% и с падением количества лимфоцитов до 7,5%. Неизменность общего лейкоцитарного показателя можно объяснить выбросом клеток в периферическую кровь из маргинальных сосудов. Индекс сдвига лейкограммы крови составил 0,6, что превышало контрольный показатель (норма=0,04) в 15 раз. Известно, что если сдвиг формулы крови идет влево с нейтрофилезом и выходом незрелых

предшественников с небольшим лейкозом или без превышения лейкоцитарного показателя, то можно говорить о тяжелой интоксикации, септицемии и т.д. на фоне хорошей сопротивляемости организма.

На 6 сутки наблюдения уровень лейкоцитов упал на 15,5% с увеличением уровня метамиелоцитов и миелоцитов до 16%. Индекс сдвига лейкограммы крови составил ИС=1,6, что давало неблагоприятный прогноз на выживаемость животных. Также лейкопения на фоне высокого нейтрофилеза и лимфопении говорит о тяжелом приобретенном иммунодепрессивном синдроме.

На 12 сутки наблюдения уровень лейкоцитов вырос до $16950,0 \pm 2175,0$ кл/мкл от контрольного показателя $15212,5 \pm 937,5$ кл/мкл. Но данный феномен неоднократно наблюдался при других видах облучения. Это объясняется тем, что инфразвук не только вызывает гибель лейкоцитов в периферической крови, но также замедляет процесс деления и созревания клеток в селезенке и лимфоузлах и костном мозге.

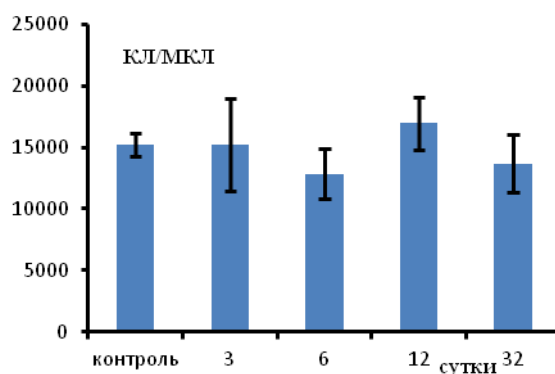


Рисунок 1 – Показатели общего лейкоцитарного индекса в группе животных после контактного инфразвукового облучения

В норме лейкоциты созревают 8-10 суток в красном костном мозге, затем 3-5 дней находятся в резерве в маргинальных сосудах на 2-31 час попадают в кровь, на 2-5 сутки попадают в ткань, после чего погибают [5,6]. При воздействии излучателей идет подавление пролиферативного пула с запаздыванием созревания и выбросом клеток на 12 день после облучения. Высокий лейкоцитарный индекс крови был на фоне высокого уровня нейтрофилеза и лимфопении с индексом сдвига 0,96.

Таблица 1 – Показатели общего лейкоцитарного индекса и лейкоцитарной формулы крови крыс после контактного облучения инфразвуком

Сутки	Лейкоциты	Миелоциты	Юные нейтрофилы	Нейтрофилы		Эозинофилы	Моноциты	Базофилы	Лимфоциты
				палочко-ядерные	сегментоядерные				
контроль	$15212,5 \pm 937,5$	$76,1 \pm 7,1$ 8 0,5 ± 0,05	$0,0 \pm 0,0$ 0,0 ± 0,0	$304,3 \pm 28,5$ 2,1 ± 0,2	$2966,4 \pm 28,2$ 19,5 ± 2,5	$836,7 \pm 4,1$ 5,5 ± 0,5	$1217,7 \pm 31,5$ 8,5 ± 3,0	$836,7 \pm 24,5$ 5,5 ± 0,5	$8975,4 \pm 16,1$ 59,1 ± 4,2
3 сутки	$15225 \pm 3750,0$	$2359,9 \pm 0,3$ 15,5 ± 7,5	$380,6 \pm 11,2$ 2,5 ± 0,5	$152,3 \pm 77,3$ 1,5 ± 0,1	$4567,5 \pm 86,8$ 30,3 ± 18,1	$609,0 \pm 0,0$ 4,3 ± 0,3	$2968,9 \pm 6,5$ 19,5 ± 1,5 *	$3045,2 \pm 80,5$ 20,5 ± 2,2	$1141,9 \pm 81,1$ 7,5 ± 2,5
6 сутки	$12862,5 \pm 2062,5$	$2122,3 \pm 67,5$ 16,5 ± 5,5	$192,9 \pm 95,2$ 1,5 ± 0,5	$578,8 \pm 28,5$ 4,5 ± 0,5 *	$2058,2 \pm 01,4$ 16,4 ± 1,4 *	$578,8 \pm 8,5$ 4,5 ± 0,5*	$1736,4 \pm 1,4$ 13,5 ± 0,5	$2315,3 \pm 0,6$ 18,2 ± 5,2	$3087,8 \pm 95$ 24,2 ± 0,0 *
12 сутки	$16950 \pm 2175,0$	$2288,3 \pm 47,2$ 13,5 ± 1,5 *	$169,5 \pm 19,3$ 1,0 ± 0,1	$423,8 \pm 30,8$ 2,5 ± 1,5	$4068,4 \pm 25,5$ 24,1 ± 0,5 *	$593,3 \pm 60,4$ 3,5 ± 0,5	$4068,6 \pm 87$ 24,2 ± 8,1	$1610,3 \pm 1,2$ 9,5 ± 2,5	$3474,8 \pm 16,9$ 20,5 ± 4,5

32 сутки	13687.5 ± 2362.5	$\frac{2874.4 \pm 3}{59}$ 21.1 ± 1.5 *	$\frac{0.0 \pm 0.0}{0.0 \pm 0.0}$	$\frac{136.9 \pm 16.0}{1.4 \pm 0.1}$	$\frac{1710.7 \pm 26.9}{12.5 \pm 0.5}$ *	$\frac{410.6 \pm 07.2}{3.4 \pm 1.6^*}$	$\frac{2053.1 \pm 2.0}{15.0 \pm 2.0}$ *	$\frac{136.9 \pm 23}{1.0 \pm 0.0}$	$\frac{6022.5 \pm 491.1}{44.9 \pm 3.9}$ 9
----------	----------------------	--	-----------------------------------	--------------------------------------	---	--	--	------------------------------------	--

Примечание: числитель – общее количество клеток в 1 мкл. крови, знаменатель – относительное содержание клеток в %, *— достоверные отличия от контроля при $P \leq 0.05$

Последующее наблюдение подтвердило наше предположение о ложном увлечении количества лейкоцитов. На 32 сутки наблюдения шло резкое падение лейкоцитарного индекса с максимально высоким выходом незрелых предшественников гранулоцитарных лейкоцитов. Индекс сдвига на 32 день наблюдения составлял 1,96, что в 49 раз превышало норму и говорило о неблагоприятном прогнозе и об отрицательном течении приобретенного иммунодепрессивного заболевания.

2. Результаты по группе животных с введением воды, облученной инфразвуком. В группе животных, которым вводили облученную инфразвуком воду, на протяжении 30 дней отмечались сохранение инстинктов, аппетита и чистая шерсть.

Спустя 3 суток после введения облученной воды у животных наблюдалось падение количества лейкоцитов с выходом не созревших клеток. Лейкопения была на фоне лимфопении и миелоцитоза с индексом сдвига 2,5. Количество лимфоцитов после введения облученной воды упало на 3 день наблюдения в 3, 7 раза по сравнению с контрольным показателем и не восстановилось вплоть до конца эксперимента.

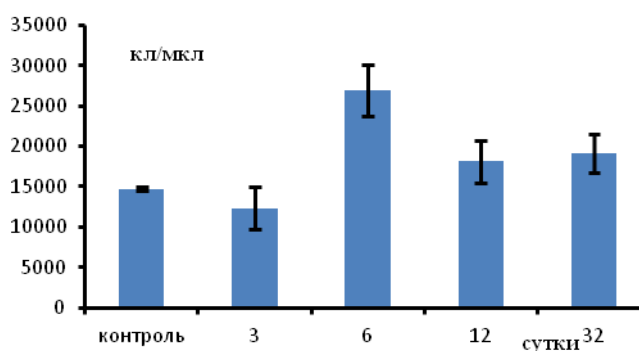


Рисунок 2 – Показатели общего лейкоцитарного индекса в группе животных с введением воды, облученной инфразвуком

На 6 сутки наблюдения уровень лейкоцитов вырос на 182,3% по сравнению с контролем. Но повышение лейкоцитарного индекса шло за счет выброса в периферическую кровь значительного количества незрелых форм гранулоцитарных лейкоцитов, моноцитов и базофилов. Индекс сдвига лейкограммы крови упал до 0,85, практически исчезли незрелые предшественники.

Таблица 2 – Показатели общего лейкоцитарного индекса и лейкоцитарной формулы крови у крыс с введением воды, облученной инфразвуком

Сутки	Лейкоциты	Миелоциты	Юные нейтрофилы	Нейтрофилы		Эозинофилы	Моноциты	Базофилы	Лимфоциты
				палочко-ядерные	сегментоядерные				
контроль	14750.5 ± 174.99	$\frac{0.0 \pm 0.0}{0.0 \pm 0.0}$	$\frac{221.3 \pm 7}{6.5}$ 1.5 ± 0.5	$\frac{442.5 \pm 14}{2.5}$ 3.5 ± 1.2	$\frac{2876.3 \pm 6}{97.9}$ 19.5 ± 4.5	$\frac{221.3 \pm 7}{1.5}$ 1.5 ± 0.5	$\frac{442.5 \pm 1}{5.2}$ 3.5 ± 0.1	$\frac{1106.3 \pm 8}{6.2}$ 7.5 ± 0.5	$\frac{9440.5 \pm 6}{2.5}$ 64.2 ± 5.8

3 сутки	12337 .5± 2587. 5	<u>1928.3±7</u> <u>58.3</u> <u>15.2±3.0</u>	<u>308.4±2.</u> <u>3</u> 2.5±0.5	<u>246.8±71</u> <u>.5</u> 2.5±1.2	<u>1048.0±6</u> <u>51.8</u> 8.5±3.5	<u>370.1±77</u> <u>.2</u> 3.5±0.0*	<u>3269.4±13</u> <u>.5</u> 26.5±5.0	<u>3084.4±8</u> <u>9.1</u> 25.5±2.2	<u>2159.1±</u> <u>14.4</u> 17.5±2. 5
6 сутки	26887 .5± 3168. 8	<u>1075.5±2</u> <u>53.5</u> 4.2±0.6*	<u>537.8±12</u> <u>6.2</u> 2.8±0.1*	<u>537.8±12</u> <u>6.2</u> 2.1±0.2*	<u>3629.8±1</u> <u>83.3</u> 13.5±2.5	<u>1478.8±4</u> <u>8.5</u> 5.5±0.5*	<u>2285.4±67</u> <u>.5</u> 8.5±0.5*	<u>3764.3±1</u> <u>8.5</u> 14.2±4.5	<u>12502.7</u> <u>±1.2</u> 46.5±3. 5
12 сутки	18113 .5± 2663. 5	<u>1901.9±1</u> <u>27.8</u> 10.5±5.5	<u>181.1±26</u> <u>.6</u> 1.5±0.2	<u>362.3±53</u> <u>.5</u> 2.1±0.5*	<u>3441.6±6</u> <u>87.2</u> 19.8±1.5*	<u>543.4±79</u> <u>.2</u> 3.1±0.2*	<u>3441.7±43</u> <u>.9</u> 19.8±1.5	<u>5434.1±4</u> <u>3.5</u> 30.1±2.5	<u>2626.5±</u> <u>24.3</u> 14.5±3. 5
32 сутки	19125 .4± 2400. 4	<u>860.6±12.</u> <u>4</u> 4.5±0.5*	<u>0.0±0.0</u> <u>0.0±0.0</u>	<u>286.9±59</u> <u>.5</u> 1.5±0.5*	<u>3060.0±1</u> <u>92.7</u> 16.2±1.8	<u>765.2±28</u> <u>7.2</u> 4.5±1.2	<u>2295.2±28</u> <u>7.5</u> 12.8±0.6*	<u>3920.6±3</u> <u>9</u> 20.5±0.5 *	<u>6215.6±</u> <u>12.9</u> 32.5±2. 5

Примечание: числитель – общее количество клеток в 1 мкл. крови, знаменатель – относительное содержание клеток в %, *— достоверные отличия от контроля при $P \leq 0.05$

Далее на 12, 32 и последующие сутки наблюдения лейкоцитарный индекс превышал контрольный показатель на 10-15%. Увеличение лейкоцитов шло за счет увеличения количества лимфоцитов, базофилов, нейтрофилов и моноцитов. Индекс сдвига лейкограммы крови приблизился к контрольному показателю.

Таким образом, прямое однократное инфразвуковое облучение животных в течение 3 минут приводит к приобретенному иммунодепрессивному синдрому. Достаточно длительное наблюдение (до 30 дней) после однократного облучения показало, что действие инфразвука в слабых дозах проявляется в разрушении зрелых форм иммунных клеток в периферической крови, в подавлении активности пролиферативного пула в костном мозге и в замедлении процесса дифференцировки в тимусе, селезенке и лимфатических узлах. Самыми чувствительными к действию инфразвука были лимфоциты, процентное содержание которых на 3 сутки наблюдения упал до 7,5%, что составило от нормы 12,7%, т.е. сокращение пула произошло в 6 раз.

Опосредованное воздействие инфразвуком на организм показали следующие результаты. Несмотря на то, что начиная с 6 сутки наблюдения, уровень лейкоцитов увеличился, по сравнению с контрольным, на 82,3% и вплоть до конца периода наблюдения (до 30 дня) превышал контроль, увеличение лейкоцитарного индекса шло за счет выброса в периферическую кровь значительного количества незрелых форм гранулоцитарных лейкоцитов, моноцитов и базофилов. Но миелоциты не являются функционально полноценными иммунными клетками. А выброс значительного количества моноцитарных и базофильных клеток в периферическую кровь может свидетельствовать об увеличении количества погибающих клеток в организме животного. Количество лимфоцитов после введения облученной воды упало на 3 суток наблюдения в 3, 7 раза по сравнению с контрольным показателем и не восстановилось вплоть до конца эксперимента. Снижение количества иммуноспецифических клеток приводит к падению иммуноспецифической реактивности организма. Значит, опосредованное воздействие инфразвука на организм также выражается в приобретенном иммунодепрессивном синдроме.

Литература

1 Карпова Н.И. Инфразвук и слух. Краткие тезисы докладов всероссийской конференции «Шум и шумовая болезнь»: Вопросы профилактики. – Л.: изд-во ЛСГМИ, 1973.

2 Темуриянц Н. А., Мартынюк В. С. Биологическая активность слабых ПЭМП сверхнизких частот. Материалы междисциплинарного семинара «Биологические эффекты солнечной активности». Пуцино, 6-9 апреля, 2004, с.7

3 Чижевский А. Л. Космический пульс жизни.-М.: Мысль.1995 – 768 с.

4 Казаков О.А. Лечение инфразвуком и другие его возможности. Алматы. Полиграфист, 1999. 142 с.

5 Сорока С.А., Негода А.А. Акустический канал влияния солнечной активности на биосферу. Материалы междисциплинарного семинара «Биологические эффекты солнечной активности». Пущино, 6-9 апреля, 2004, с.14

6 Бинги В.Н., Савин А.В. Физические проблемы действий слабых магнитных полей на биологические системы // Успехи физических наук. -2003.-Т.173, № 3. с.265-300.

Тұжырым

Егеуқұйрықтарға бір реттік инфрадыбыстың 3 минут тікелей әсері, сонымен бірге суды 3 минут инфрадыбыспен тікелей сәулелендірілген суды енгізу иммунодепрессиялық синдромға әкеліп соғады.

Summary

The contact unitary irradiation of rats an infrasound within 3 minutes results to got immunodepressiv syndrome. Unitary introduction of the water irradiated with an infrasound unitary within 3 minutes, results to got immunodepressiv syndrome.

эл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті биология факультетінің, адам және жануарлар физиологиясы мен биофизика кафедрасының профессоры Торманов Нұртайға 70 жас және ғылыми педагогикалық еңбек жолына 45 жыл



Торманов Нұртай Қызыл-Орда облысы, Қармақшы ауданы, Ақжар совхозында 1940 жылы 1 қаңтарда дүниеге келді. 1960 жылы С.М. Киров атындағы Қазақтың мемлекеттік университетінің биология факультетіне оқуға қабылданып, үздік бітіргеннен соң, 1965 жылы адам және жануарлар физиологиясы кафедрасының жанындағы ғылыми-зерттеу проблемалық лабораториясына жұмысқа жолдамамен орналасады. Алғашқы зерттеу жұмыстарын биология ғылымының докторы, профессор М.Ф. Авазбакиеваның жетекшілігімен бастады. «Қоршаған орта факторларының (гипоксия, жоғарғы ыстық температура) адам мен жануарлар ағзасына әсері» тақырыбындағы мәселелерді зерттеді. Ғылыми зерттеу жұмысынан алынған нәтижелерінің қорытындысы бойынша 1974 жылы кандидаттық диссертацияны қорғады. 1975 жылдан бастап мұғалімдік қызметінде ассистент, аға мұғалім, доцент, профессор дәрежесіне дейін көтерілді. 1976-1980 жылдар аралығында биология-география факультетінің сыртқы және кешкі бөлімінің декандық қызметін, 1983-1990 жылдар аралығында биология факультетінің күндізгі бөлімі деканының орынбасары қызметін атқарды. 1990-1995 жылдар аралығында жаңадан ашылған Биологияны оқыту әдістемесі кафедрасының меңгерушісі болып тағайындалды.

Профессор Н. Торманов 45 жылдан астам уақыт жастарға білім және тәрбие берумен айналысып келеді. Профессор Н.Торманов факультетімізде биология, биотехнология, экология мамандықтарындағы қазақ бөлімінде оқитын студенттерге жалпы міндетті курс “Адам және жануарлар физиологиясы” және “Биологияны оқыту әдістемелері” пәндерінен дәріс береді, сол пәндерден студенттерге арналған қазақ тілінде оқулықтарды баспадан шығарды. Сонымен бірге «Қоршаған ортаның әртүрлі химиялық заттармен оның ішінде гербицидтермен, инсектицидтермен ластануына бақылау жасау» тақырыбындағы ғылыми зерттеу жұмыстарын Қызылорда облысының күріш егетін аудандарында (Тереңөзек, Жалағаш 1981-1984) жүргізді. Ы. Алтынсарин атындағы білім беру проблемалары ғылыми зерттеу институтымен бірігіп «Биологияны тереңдетіп оқытатын гимназияларда оқу-әдістемелік кешенін жасау» мәселелерімен айналысты (1992-1996). Ал 2000 жылдан бастап «Стресс әсерінен жүрек жұмысы ырғағының өзгеруіне эндогендік аминдердің ролі» тақырыбында зерттеу жұмыстарымен айналысып келеді.

Профессор Н. Тормановтың қаламынан 120 ғылыми мақалалар мен оқу-әдістемелік, оқу құралдары жарық көрді. Оның ішінде қазақ тілінде университет студенттеріне арнап 6 оқу құралы, мектеп оқушыларына арнап 1 оқулық жазылды.

Профессор Н.Торманов өзінің білімі мен тәжірибесін, оқу үрдісіндегі жаңалықтарды жас ұрпақтарға үйретіп келеді. Алматы қаласының көптеген мектептерінің (РФМШ, №140, 161, 145), Республикамыздың басқада облысындағы мектептерінің оқытушылар мен оқушыларына биология пәнін тереңдетіп оқыту әдіс-тәсілдерін үйретіп, көмек көрсетуде. 2008-2009 жылдары Маңғыстау облысының білім беру департаментінің сұранысы бойынша биология пәнінен 30 мұғалімге апталық семинар өткізді. Облыстық «Дарын» орталығына барып, дарынды балалармен биология пәнінің күрделі тарауларынан дәріс берді. 2009 жылының ақпан, наурыз айларында Қызыл-Орда, Талдықорған облыстарында Республикалық деңгейде пәндік Олимпиада өткізуге белсенді қатысты.

Н. Тормановтың ұсынысымен 1998 жылы ҚР Білім, Ғылым және мәдениет министрлігі жанынан Республикалық ғылыми-практикалық «Дарын» орталығын ұйымдастыруда да еңбегі бар. 1997-1999 жылдары Халықаралық Олимпиаданы биология пәнінен өткізу ұйымының мүшесі және координаторы болды, Халықаралық биологиялық Олимпиадаға алып барған Қазақстанның командасынан үш оқушысы ең алғаш рет қола медальға ие болды (Киль қаласы, Германия, 1998 ж.). 1997 жылы факультетте медико-биологиялық іс мамандығының оқу жоспарына «Валеология», «Валеологияны оқыту әдістері» пәндерін енгізіріп, оның оқу жоспарын және оқу құралын жарыққа шығаруда профессор Н. Тормановтың еңбегі сіңген. Оның басшылығымен мектепте өтетін педагогикалық практикада Валеология пәнінен білім беру мен салауатты өмір салтын насихаттау кең ауқымды түрде жүргізіліп келеді.

Республикалық деңгейде шығатын ғылыми-педагогикалық «Биология және салауатты өмір салты», «Валеология, физкультура. Спорт» журналдарының редакциялық кеңесінің мүшесі. Профессор Н.Торманов факультет, университет деңгейіндегі қоғамдық жұмыстарына белсене қатысады, факультеттегі «Қазақ тілі» қоғамының төрағасы, факультеттің Ғылыми кеңесінің мүшесі, ҚР Білім және ғылым министрлігінің жанындағы тесттік орталықтың Аралық Мемлекеттік Бақылау өткізу комиссиясының сараптаушысы. Университет жанындағы оқытушылардың кәсіби мамандығын көтеру институтына Республикалардың түпкір-түпкірінен келген мұғалімдерге дәріс оқиды. Ол 2008-2009 жылы Шымкенттің М. Әуезов атындағы Мемлекеттік университетінен, Алматы қаласындағы қыздар педагогикалық Ұлттық университетінен, Ақтау қаласындағы Ш.Есенов атындағы мемлекеттік университеттен келген мұғалімдерге оқу-әдістемелік көмек көрсетті.

Жастарға білім, тәрбие берудегі жемісті еңбегін және факультет, университет деңгейіндегі белсенді жұмыстары бағаланып университет ректорларының бұйрығымен бірнеше дүркін алғыс жарияланумен қатар (20рет), жоғары мектеп қызметкерлерінің ұжымы мақтау грамотасын берген болса, 1994 және 1997 жылы «ҚР білім озаты» деген марапатқа ие болды (куәлік №131476 7.09.1994, куәлік №112117 19.11.1997). Білім беру саласындағы ерекше еңбегі бағаланып 2009 жылы “Қазақстан Республикасының Білім Беру ісінің құрметті қызметкері” белгісімен марапатталды (куәлік №718).

Торманов Нұртайды мерей тойымен құттықтаймыз, Өзіне зор денсаулық, қажымас қайрат, шат көңіл-күй, еңбегіне табыс, жан ұясына амандық тілейміз.

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетіндегі биология факультетінің адам және жануарлар физиологиясы мен биофизика кафедрасының ұжымы мен ғылым жолын қуған шәкірттері



Аманкул Бекенович Бекенов
(к 70-летию со дня рождения)

Аманкул Бекенов родился 16 ноября 1939 г. в пос.Торгай Жангельдинского района Костанайской области. В 1961 г. окончил естественно-географический факультет КазПИ им. Абая. После окончания института вся трудовая деятельность его связана только с одним научным учреждением Национальной Академии Республики Казахстан – Институтом зоологии, являющимся крупным научным центром зоологических и паразитологических исследований в Казахстане. Здесь он прошел путь от аспиранта до директора Института. В 1967 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Экология длиннохвостого суслика в Джунгарском Алатау», а в 1971 г. был переведен на должность старшего научного сотрудника. С 1977 г. заведующий лабораторией териологии. В 1987-1994 гг. работал заместителем директора Института по научной работе, одновременно руководил лабораторией териологии. В 1991 г.

защитил докторскую диссертацию на тему: «Млекопитающие пустынь Казахстана (фауна, биология, рациональное использование и охрана)» в специализированном совете Института экологии растений и животных Уральского отделения АН СССР (г.Свердловск). В 1993 г. ему присвоено ученое звание профессора. В 1995-2003 гг. работал директором Института зоологии МОН РК, а с 2003 г. по настоящее время - заведующий лабораторией териологии Института.

Проф. А.Бекенов в своей деятельности большое внимание уделил интродукции казахстанской териологической науки в мировое научное сообщество (ИНТАС, ГЭФ, фонд Дарвина, WWF) привлечению в науку средств международных фондов. В годы независимости Республики Казахстан исследования лаборатории, руководимой А.Бекеновым, вышли на международную арену. География стран, участвующих в совместных с коллегами А.Бекенова научных исследованиях и проектах, охватывает многие страны мира (Англия, Франция, Германия, Норвегия, Швеция, Италия, Финляндия, Северная Ирландия, Китая и др.). Благодаря этой стороне его деятельности увеличивается потенциал мировой науки, направленный на сохранение биоразнообразия, укрепляются дружеские связи между учеными разных стран.

Высокую оценку заслуживает практическая деятельность А.Бекенова по обоснованию организации особо охраняемые природные территории (ООПТ) Казахстана. Им разработаны и переданы в Комитет лесного и охотничьего хозяйства МСХ РК рекомендации и биологические обоснования по интродукции редких и исчезающих видов копытных животных (архара, кулана, джейрана, лошадь Пржевальского) в различных регионах Казахстана. А.Бекенов участвовал и участвует в подготовке многих проектов постановлений и распоряжений Правительства Республики Казахстан, касающихся вопросов развития охотничьего хозяйства и охраны животного мира. За научную разработку «Биологические основы восстановления и охраны поголовья сайгаков, их рациональное использование в народном хозяйстве Казахстана» коллективу сотрудников лаборатории териологии, в том числе и А.Бекенову, присуждена Государственная премия Республики Казахстан 1982 г. в области науки и техники.

Выпуск многотомной монографии «Млекопитающие Казахстана» можно считать крупным вкладом в териологию, за что она получила высокую оценку научной общественности бывшего СССР. В 1988 г. коллективу авторов этой сводки, в том числе А.Бекенову, присуждена первая премия Московского общества испытателей природы за лучшие работы в области естествознания.

А.Бекеновым опубликовано 349 научных работ, из них 6 монографий. 17 научных работ издано в дальнем зарубежье. Среди крупных теоретических обобщений следует отметить «Млекопитающие Казахстана» (4-х томах, 1969-1985); «Красная книга Казахстана» (1978, 1991, 1996, 2008); «Сайгак (филогения, систематика, экология, охрана и использование)» (1998); «Редкие и исчезающие животные Казахского мелкосопочника» (2005) и «Қазақстанның сирек кездесетін және жойылып кету қаупі бар жануарлары» (2008).

Аманкул Бекенович активно участвует в подготовке молодых ученых высокой квалификации. Под его руководством защищено - одна докторская и 7 кандидатских диссертаций. В настоящее время руководит научными работами 3 докторантов и 4 соискателей. Его ученики работают во многих ВУЗ-ах и НИИ Казахстана.

Проф. А.Бекенов проводит большую общественную работу. Он является членом диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций при Институте зоологии МОН РК, зам. председателя зоологической комиссии по Красной книге Республики Казахстан, председателем секции биологии и экологии редакции национальной энциклопедии «Қазақстан», член Международной комиссии териологического общества РАН и Международной комиссии по сурочьим МСОП, членом Президиума Международного союза по сохранению сайгака. Избран академиком Академии естественных наук Республики Казахстан (1997).

За успешную исследовательскую работу, активную научно-организационную и общественную деятельность Аманкул Бекенович награжден многими грамотами Президиума Академии наук Республики и МОН РК. Признанием его заслуг в развитии зоологической науки в Казахстане являются получение от Президента Республики Казахстан Н.А.Назарбаева «Алғыс хат» в дни празднования 10-летия независимости Республики.

Пожелаем же Аманкулу Бекеновичу крепкого здоровья, долгих лет жизни и больших творческих успехов на благо развития зоологической науки.

Б.Е. Есжанов, К.С. Мусабеков