

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Қазақстан Республикасының
Ғылым Академиясының
С. Ж. Асфендияров атындағы
Қазақ ұлттық медицина университеті

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
Asfendiyarov
Kazakh National Medical University

**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

2 (344)

JANUARY – FEBRUARY 2021

PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

ALMATY, NAS RK

Бас редактор

НҮРҒОЖИН Талғат Сейітжанұлы, медицина ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА корреспондент мүшесі (Алматы, Қазақстан) Н = 10

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ:

БЕРСІМБАЕВ Рахметқажы Ескендірұлы (бас редактордың орынбасары), биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 12

ЖАМБАКИН Қабыл Жапарұлы (бас редактордың орынбасары), биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 2

БИСЕНБАЕВ Амангелді Қуанышбайұлы, биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 7

ХОХМАНН Джудит, Сегед университетінің фармацевтика факультетінің фармакогнозия кафедрасының меңгерушісі, жаратылыстану ғылымдарының пәнаралық орталығының директоры (Сегед, Венгрия) Н = 38

РОСС Самир, PhD докторы, Миссисипи университетінің өсімдік өнімдерін ғылыми зерттеу ұлттық орталығы Фармация мектебінің профессоры (Оксфорд, АҚШ) Н = 35

ФАРУК Асана Дар, Хамдард Аль-Маджида шығыс медицина колледжінің профессоры, Хамдард университетінің Шығыс медицина факультеті (Карачи, Пәкістан) Н = 21

ТОЙШЫБЕКОВ Мәкен Молдабайұлы, ауыл шаруашылығы ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 2

САҒИТОВ Абай Оразұлы, биология ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі (Алматы, Қазақстан) Н = 4

ХУТОРЯНСКИЙ Виталий, философия докторы (Ph.D, фармацевт), Рединг университетінің профессоры (Рединг, Англия) Н = 40

БЕНБЕРИН Валерий Васильевич, (бас редактордың орынбасары), медицина ғылымдарының докторы, профессор, ҚР ҰҒА академигі, Қазақстан Республикасы Президенті Іс Басқармасы Медициналық орталығының директоры (Алматы, Қазақстан) Н = 11

ЛОКШИН Вячеслав Нотанович, ҚР ҰҒА академигі, медицина ғылымдарының докторы, профессор, "PERSONA" халықаралық клиникалық репродуктология орталығының директоры (Алматы, Қазақстан) Н = 8

СЕМЕНОВ Владимир Григорьевич, биология ғылымдарының докторы, профессор, Чуваш республикасының еңбек сіңірген ғылым қайраткері, морфология, Акушерлік және терапия кафедрасының меңгерушісі, "Чуваш мемлекеттік аграрлық университеті" Федералдық мемлекеттік бюджеттік жоғары білім беру мекемесі (Чебоксары, Чуваш Республикасы, Ресей) Н = 23

ЩЕПЕТКИН Игорь Александрович, медицина ғылымдарының докторы, Монтана штаты университетінің профессоры (АҚШ) Н = 27

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктеуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.).

Қазақстан Республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде 01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28; 219, 220 бөл.; тел.: 272-13-19

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2021

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Мұратбаев көш., 75.

Главный редактор:

НУРГОЖИН Талгат Сейтжанович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 10

Редакционная коллегия:

БЕРСИМБАЕВ Рахметкажи Искендерович (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 12

ЖАМБАКИН Кабыл Жапарович (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 2

БИСЕНБАЕВ Амангельды Куанбаевич (заместитель главного редактора), доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 7

ХОХМАНН Джудит, заведующий кафедрой Фармакогнозии Фармацевтического факультета Университета Сегеда, директор Междисциплинарного центра естественных наук (Сегед, Венгрия) Н = 38

РОСС Самир, доктор PhD, профессор Школы Фармации национального центра научных исследований растительных продуктов Университета Миссисипи (Оксфорд, США) Н = 35

ФАРУК Асана Дар, профессор колледжа Восточной медицины Хамдарда аль-Маджида, факультет Восточной медицины университета Хамдарда (Карачи, Пакистан) Н = 21

ТОЙШИБЕКОВ Макен Молдабаевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 2

САГИТОВ Абай Оразович, доктор биологических наук, профессор, академик НАН РК (Алматы, Казахстан) Н = 4

ХУТОРЯНСКИЙ Виталий, доктор философии (Ph.D, фармацевт), профессор Университета Рединга (Рединг, Англия) Н = 40

БЕНБЕРИН Валерий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, академик НАН РК, директор Медицинского центра Управления делами Президента Республики Казахстан (Алматы, Казахстан) Н = 11

ЛОКШИН Вячеслав Нотанович, академик НАН РК, доктор медицинских наук, профессор, директор Международного клинического центра репродуктологии «PERSONA» (Алматы, Казахстан) Н = 8

СЕМЕНОВ Владимир Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Чувашской Республики, заведующий кафедрой морфологии, акушерства и терапии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный аграрный университет» (Чебоксары, Чувашская Республика, Россия) Н = 23

ЩЕПЕТКИН Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор Университета штата Монтана (США) Н = 27

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

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

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

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 300 экземпляров.

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28; ком. 219, 220; тел. 272-13-19

www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2021

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

Editor in chief:

NURGOZHIN Talgat Seitzhanovich, Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 10

Editorial board:

BERSIMBAEV Rakhmetkazhi Iskendirovich (deputy editor-in-chief), Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK, L.N. Gumilyov Eurasian National University (Nur-Sultan, Kazakhstan) H = 12

ZHAMBAKIN Kabyl Zhaparovich, Professor, Academician of the NAS RK, Director of the Institute of Plant Biology and Biotechnology (Almaty, Kazakhstan) H = 2

BISENBAEV Amangeldy Kuanbaevich (Deputy Editor-in-Chief), Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 7

HOHMANN Judith, Head of the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Szeged, Director of the Interdisciplinary Center for Life Sciences (Szeged, Hungary) H = 38

ROSS Samir, Ph.D., Professor, School of Pharmacy, National Center for Scientific Research of Herbal Products, University of Mississippi (USA) H = 35

PHARUK Asana Dar, professor at Hamdard al-Majid College of Oriental Medicine. Faculty of Oriental Medicine, Hamdard University (Karachi, Pakistan) H = 21

TOISHIBEKOV Maken Moldabaevich, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 2

SAGITOV Abai Orazovich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of NAS RK (Almaty, Kazakhstan) H = 4

KHUTORYANSKY Vitaly, Ph.D., pharmacist, professor at the University of Reading (Reading, England) H = 40

BENBERIN Valery Vasilievich, Doctor of Medicine, Professor, Academician of NAS RK, Director of the Medical Center of the Presidential Property Management Department of the Republic of Kazakhstan (Almaty, Kazakhstan) H = 11

LOKSHIN Vyacheslav Notanovich, Professor, Academician of NAS RK, Director of the PERSONA International Clinical Center for Reproductology (Almaty, Kazakhstan) H = 8

SEMENOV Vladimir Grigorievich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of the Chuvash Republic, Head of the Department of Morphology, Obstetrics and Therapy, Chuvash State Agrarian University (Cheboksary, Chuvash Republic, Russia) H = 23

TSHEPETKIN Igor Aleksandrovich, Doctor of Medical Sciences, Professor at the University of Montana (Montana, USA) H = 27

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

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

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

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 300 copies.

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

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2021

Address of printing house: «Aruna» ST, 75, Muratbayev str, Almaty.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 2, Number 344 (2021), 15 – 25

<https://doi.org/10.32014/2021.2519-1629.65>**DC:** 61:575; 616:579.61; 616.9; 616-036.22; 616-07:061.62; 576.89; 591.69; 616:576.8; 596**IRSTI:** 34.33.27; 34.33.23; 76.03.43**Atshabar B.¹, Nurtazhin S.T.², Shevtsov A.³, Ramankulov E.M.³, Sayakova Z.¹**¹M. Aikimbaev National Scientific Center for Especially Dangerous Infections under the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan, Almaty (NSCEDI);²Faculty of Biology and Biotechnology, al-Farabi Kazakh National University, Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Almaty;³National Center of Biotechnology of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan;
E-mail: batshabar@gmail.com**POPULATIONS OF THE MAJOR CARRIER RHOMBOMYS OPIMUS, VECTORS OF XENOPSYLLA FLEAS AND THE CAUSATIVE AGENT OF YERSINIA PESTIS IN THE CENTRAL ASIAN DESERT NATURAL FOCUS OF PLAGUE**

Abstract. In the Central Asia desert natural focus of plague, the major carrier of the *Yersinia pestis* agent is the great gerbil *Rhombomys opimus*, and its vectors include fleas of the *Xenopsylla* genus. Phenotypical and genotypical properties of the *R. opimus* populations, *Xenopsylla* fleas and *Yersinia pestis* strains have been studied in the Central Asia desert natural focus of plague. Phenotypic distinctions and population discreteness have been identified in *R. opimus* on the *cytochrome b* gene of the mitochondrial genome from three autonomous plague foci: Pre-Balkhash, Betpakdala and Pre-Ustyurt. Phenotypic distinctions have been found in *Xenopsylla* fleas in the Central Asia desert natural focus of plague, and the genotype of *X. gerbilli minax* fleas on the *Cox2* gene of the mitochondrial DNA; these had been captured in the Betpakdala autonomous focus. The repertoire diversity in phenotypical properties of *Y. pestis* strains from different natural foci of plague has been demonstrated, and population discreteness of *Y. pestis* strains has been determined using the next-generation sequencing method for single nucleotide polymorphism genes. Results of the study suggest that geographical and environmental isolation and natural selection have led to heterogeneity in the three populations of the great gerbil, vector fleas and *Y. pestis*.

Key words: plague, natural focus, *Yersinia Pestis*, carrier, *Rhombomys Opimus*, vector, *Xenopsylla*.

1. Introduction

Plague is a zoonotic natural focus based infectious disease. Its causative agent, *Yersinia pestis*, belongs to the *Enterobacteriaceae* family. *Y. pestis* explicitly exists in the nature in deserts, steppes and mountain landscapes, within the carrier-vector-agent system. In natural foci, *Y. pestis* carriers include various species of rodents. The role of vectors is played by the rodents' fleas. Stability and sizes of natural foci, which normally correspond to the area of species of the major carrier rodent, demonstrate specificity of the *Y. pestis* ecological niche, the level of systemic interaction between the agent and its natural carriers, and the impact of the selection and selective mechanisms which ensure a dynamic equilibrium between the carrier populations and *Y. pestis* within the focus. In Kazakhstan, natural plague foci cover an area of more than 39% of the total country's area, or approximately 1.1 million square kilometers (Figure 1).

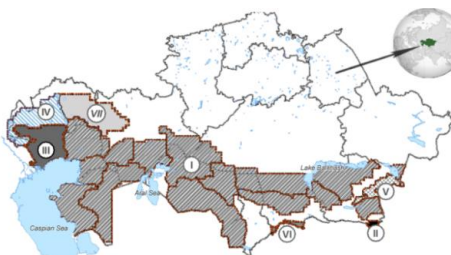


Figure 1. Natural plague foci in Kazakhstan:

I – Central Asian desert natural focus; II – Tien Shan natural focus; III – Volga-Ural sand natural focus; IV – Volga-Ural steppe natural focus; V – Dzungarian mountain natural focus; VI – Talas natural focus; VII – Ural-Oiyl steppe natural focus

In the Central Asia desert natural focus of plague, the major carrier of the *Yersinia pestis* agent is the great gerbil *Rhombomys opimus* Lichtenstein, 1823 (Fig. 2, A) [1, 2]. The roles of secondary and accidental carriers are played by other species of gerbils. There are a total of 14 autonomous foci in Kazakhstan, differing in the landscape diversity, spatial and biocenotic structure [3]. *R. opimus* is also common in desert areas of the Northern Hemisphere [4] (Figure 2, B), including countries with expansive natural plague foci.

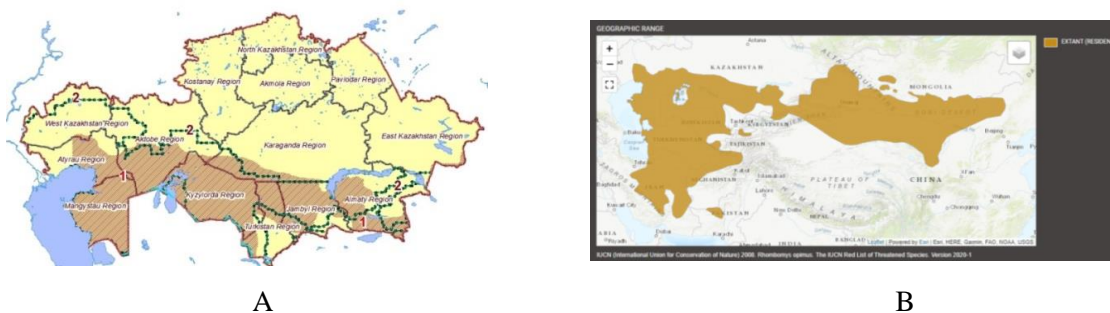


Figure 2. Natural habitat of *R. opimus* in Kazakhstan and worldwide

In individual parts of the natural focus, *R. opimus* populations differ in their phenotypical properties, including the scaffold and dimensions of the skull [5]. Apparently, geographical isolation and different landscapes have determined heterogeneity of the three great gerbil populations in question [6]. To the best of our knowledge, the genome of plague carrier rodents in Central Asian plague foci has not yet been properly investigated while genomes of *R. opimus*, inhabiting areas in Iran and northern China, have been sequenced [7, 8, 9].

Major vectors of plague in the desert focus of Central Asia are *R. opimus* fleas of the *Xenopsylla* genus [3, 10, 11, 12]. A few species of *Xenopsylla* fleas prevail in autonomous foci of the Central Asian natural focus: in Pre-Balkhash - *X. hirtipes*; in Betpakdala - *X. gerbilli minax*, and in Pre-Ustyurt - *X. skrjabini* (Figure 3).



Figure 3. Habitats of *Xenopsylla* fleas in autonomous foci of the Central Asian natural desert plague focus:

1 - *X. hirtipes* (Pre-Balkhash autonomous focus); 2 - *X. gerbilli minax* (Betpakdala autonomous focus); 3 - *X. skrjabini* (Pre-Ustyurt autonomous focus)

In Kazakhstan, anti-plague stations (NSCEDI branches), located within natural foci, carry out continuous epizootological monitoring of enzootic areas. Only isolated sporadic cases have been recorded in Kazakhstan over the last years, with no epidemic outbreak. The last four plague cases were recorded in 2003.

The study of *Y. pestis* strains from some other natural foci of Asia and Europe suggests phenotypical and genotypical diversity of ecological variants of *Y. pestis*. [13, 14]. Different limited areas of the Central Asian natural focus show a steady long-standing circulation of *Y. pestis* strains atypical in the need in amino acids as growth factors [15]. An analysis of *Y. pestis* strains from the Central Asian desert and the Tien Shan mountain natural plague foci with various environmental conditions shows that the *Y. pestis* strains in question belong to three biovars: Antiqua, Mediaevalis and Orientalis [14]. The *Y. pestis* genome has been sequenced, and strains from numerous plague foci have been genotyped [16].

2. Materials and methods

Study materials included: 1) samples of mitochondrial RNA isolated from the liver of *R. opimus*; 2) samples of mitochondrial RNA of *Xenopsylla* fleas; 3) DNA of *Y. pestis* strains from the NSCEDI collection isolated in the Central Asian plague focus and other foci.

All manipulations with *R. Opimus* organs, fleas and *Y. pestis* strains followed appropriate biosafety standards and pathogen handling techniques [17].

Isolation of the *R. opimus* mitochondrial RNA. A total of 88 great gerbil samples had been captured from three independent population groups. Extraction of mitochondrial RNA from the liver of *R. opimus* utilized the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, USA) [18]. A fragment of *cytB* with the length of 578 bps (without primers) was amplified using UNFOR403 and UNREV1025 primers [19].

The nucleic acid sequence of the D-loop of *R. opimus* DNA was amplified using Thr-L15926 and DL-H16340 primers [20]. PCR product purification involved the enzyme-based method using Exonuclease I (Fermentas) and alkaline phosphatase (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas) [21]. Sequencing assay utilized BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). The phylogenetic analysis used MEGA 7.0 software, Tamura 3-parameter model, discrete gamma distribution, and Bootstrap 1000 [22].

Phenetic studies of fleas. The material included 681 *Xenopsylla* fleas from autonomous foci and from the collection of the NSCEDI zoological and parasitological museum. Data were processed in free statistical environment R version 4.0.0, with RStudio graphic environment [23]. Head and head bristle measuring was based on pictures of fleas using ImageJ software [24]. The analysis used meristic features [10].

Isolation of mitochondrial DNA and genotyping of *Xenopsylla* fleas. 22 *Xenopsylla* flea samples were selected for the assay. DNA isolation used the established protocol [25]. The *CoxII* nucleic acid sequence fragment was amplified using Insect-A-LEU and Insect-B-T primers [26]. PCR product purification involved used of exonuclease I (Thermo Scientific) and alkaline phosphatase (Thermo Scientific) [21]. Sequencing utilized cycle sequencing kit BigDye® Terminator v3.1 (Applied Biosystems) and primers, for PCR amplification. The phylogenetic analysis used MEGA 7.0 software, with the maximum likelihood method, Tamura 3-parameter model, discrete gamma distribution, and Bootstrap 1000 [22].

***Y. pestis* DNA genotyping. *Y. pestis* DNA genotyping method.**

Isolation of *Y. pestis* strain DNA utilized QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, USA) [25]. Genotyping of 31 *Y. pestis* strains was based on the whole-genome sequencing method. Assessment of preliminary sequencing data used FastQC v0.11.7 and Multiqc v1.8 software. The phylogenetic tree derivation used BioNumerics v8.0 software (Applied Maths, Belgium).

3. Results

The epizootic status of plague in the Central Asian natural focus

Over the last decade (2010-2019) of monitoring in the Central Asian desert focus, active plague epizootics have been registered; 1024 *Y. pestis* strains have been isolated and studied. During the study of *R. opimus* and *Xenopsylla* fleas in three autonomous foci, the following numbers have been isolated: in Pre-Balkhash - 264; in Betpakdala – 60, and in Pre-Ustyurt - 20 *Y. pestis* strains.

***R. opimus* and *Xenopsylla* flea populations in the Central Asian natural plague focus.** All three regions in study are in the northern desert area, where special impact on vegetation is made by trends in changing precipitation amounts and frequencies. An analysis of climatic and geographical features has found synchronization degrees of the air temperature and precipitation trends [6]. Intensive growth of the yearly average temperature has been noted in the surface air since the mid-1970s. Therefore, irregularities of climatic, geographical and geobotanical conditions in the three autonomous foci in question have resulted in genetically isolated *R. opimus* population.

A morphometric study was carried out for 681 samples of *Xenopsylla* fleas (*X. hirtipes*, *X. skrjabini* and *X. g. minax*), captured in the Pre-Balkhash, Betpakdala and Pre-Ustyurt autonomous foci. A number of significant distinctions have been found in *Xenopsylla* fleas regarding their morphometric parameters: position of parietal bristle and the back edge bristle. *X. hirtipes* fleas from the Pre-Balkhash and Betpakdala foci show statistically significant difference from fleas from other foci, regarding the distance between the ocular and parietal bristle ($p = 0,00126$ и $0,00025$, respectively), as well as the distance between the parietal and angular bristle ($p = 0,00138$ and $0,00402$, respectively). This may suggest formation of an independent population of *X. hirtipes* fleas in the Pre-Balkhash and Betpakdala plague foci.

Sequencing of mitochondrial RNA of *R. opimus*. Genotyping of *R. opimus* from the Pre-Balkhash, Betpakdala and Pre-Ustyurt foci has been carried out. Based on a review of publications [7, 9], a conclusion has been made that genotyping on the *CytB* gene sequence should be performed to study population differences in great gerbils.

A total of 19 unique haplotypes have been identified on the fragment of nucleic acid sequence of *CytB* gene. Out of 578 analyzed bases, the share of transitions was 37, and transversions - four. Eight of the polymorphisms analyzed result in amino acid replacement. 88 samples clustered into seven haplogroups. 25 haplotypes were established using *D-loop* nucleic acid sequence. 63 of 468 bases were variable. Of them, 59 were transitions, and three – transversions; also, adenine insertion was found in three samples from I-B15, I-B16, I-B17 samples captured in southern Pre-Balkhash.

The phylogenetic analysis with nucleic acid sequences of 19 haplotypes, established in *R. opimus* from fovi in Kazakhstan, and sequences of *CytB* gene of *R. opimus* captured in Iran and China [7, 8], formed three major clusters (Figure 4).

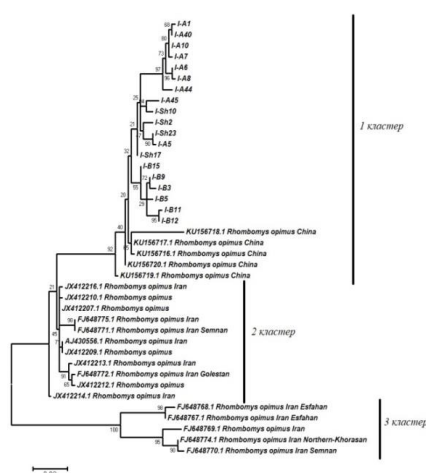


Figure 4. The phylogenetic tree based on the analysis of nucleic acid sequence of *CytB* gene of *R. opimus*, captured in Kazakhstan, Iran and China: B - samples collected in southern Pre-Balkhash; Sh - samples collected in western Betpakdala; A - samples collected in eastern Pre-Ustyurt

The first cluster includes sequences of *R. opimus* captured in Kazakhstan and China; concurrently, the great gerbil captured in Kazakhstan is a separate clade. The second and third cluster includes sequences of the great gerbil captured in Iran.

Genotyping, looking for population diversity and genomic features of the *Xenopsylla* genus from the Central Asian desert natural plague focus

A total of 743 bps in 22 *Xenopsylla* samples have been sequenced. The resulting sequences include the whole protein coding sequence *COII* (cytochrome oxidase subunit II) and a fragment of sequence tRNA-Lys. A total of 4 haplotypes have been found in 22 *Xenopsylla* samples. The largest genotype includes 17 sequences from fleas from the southern Pre-Balkhash and western Betpakdala. Flea samples from the eastern Pre-Ustyurt represent a separate clade, are more genetically diverse, and include 3 haplotypes (Figure 5, A). An analysis including sequences of the *Xenopsylla* genus allowed to cluster haplotype I with sequences *X. gerbilli minax* collected in China’s Xinjiang Uyghur Autonomous Region (Figure 5, B). Haplotypes II-IV are unique for Kazakhstan and represent a separate clade.

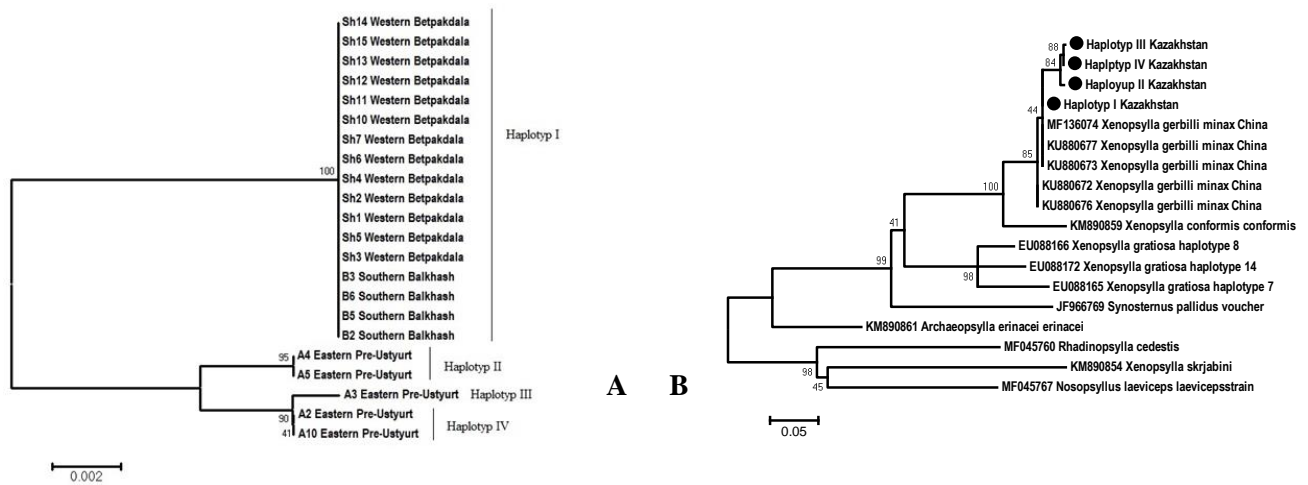


Figure 5. The phylogenetic tree based on nucleic acid sequence of *COII* and fragment tRNA-Lys

Genotyping of *Y. pestis* strain DNA.

Whole-genome data of 31 штамма *Y. pestis* strains have been received. The strains form four phylogenetic branches: 0.PE4, 1.ORI3, 2.MED0 и 2.MED1 (Figure 6).

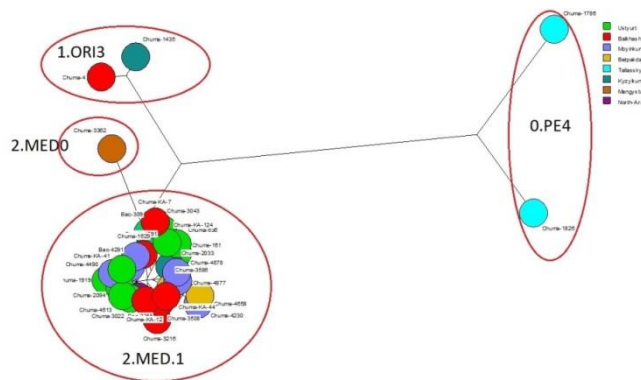


Figure 6. Clusterization of 31 *Y. pestis* strains

The remaining 26 strains clustered into medieval biovar of the phylogenetic branch 2.MED1. Two strains, Chuma-1435 and Chuma-4, went to the phylogenetic branch 1.ORI3; the strains were isolated from the great gerbil from the Kyzylkum plague focus and from a person infected with plague in the Pre-

Balkhash autonomous focus, respectively. Strain Chuma-3362 was phylogenetically identified as 2.MED0; it was isolated from a sick camel in the Mangistau autonomous focus.

4. Conclusions

The results of the studies are as follows: a) Identification of the genetic structure of mitochondrial DNA of *R. opimus* captured in different geographically remote areas in the Central Asian desert natural focus; b) Finding of genetic differences in *Xenopsylla g. minax* fleas regarding the nucleic acid sequence *Cox2* of the mitochondrial DNA gene; c) The studied populations of *Y. pestis* strains are genetically diverse and belong to four phylogenetic branches: 0.PE4, 1.ORI3, 2.MED0 and 2.MED1.

Geographic isolation, different climatic conditions and landscapes, and natural selection determined heterogeneity of three populations of the great gerbil, *Xenopsylla* fleas and *Y. pestis* strains in autonomous foci of the Central Asian desert natural plague focus.

The statistically significant differences of phenotypical features in the great gerbil *R. opimus* and some species of *Xenopsylla* fleas suggest formation of distinct populations of rodent carriers and flea vectors in natural plague foci. The studies that have been carried out exemplify comprehensive research of genomic variability regarding co-members of the plague enzootic triade (carrier-vector-agent), and an attempt to find co-evolution of biological species of the plague biocenosis participants, with environmental isolation.

Funding: This work was supported by grant from the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan «Population-based ecological types of carriers, vectors and causative agents of plague in Central Asian desert foci of plague» (AP05133153).

Ethics statement. The studies were carried out with permission from the local ethics committee, National Scientific Center for Especially Dangerous Infections under the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan: Протокол # 1, Заседание # 2 от 18.09.2017.

Acknowledgments. The authors acknowledge: A. Berdibekov, A. Alipbaev and A. Belyayev, staff members of the Taldykorgan Branch of NSCEDI; R. Sailaubekuly and M. Kulemin, staff members of the Shymkent Branch of NSCEDI; L. Isaeva and Z. Katuova, staff members of the Aktobe Branch of NSCEDI, for assistance in receiving field samples for research.

Атшабар Б.¹, Нұртазин С.Н.², Шевцов А.³, Раманқұлов Э.М.³, Саяқова З.¹

¹ҚР ДСМ «М.Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы», Алматы, Қазақстан;

² Өл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан;

³ ҚР БҒМ ҒК «Ұлттық биотехнология орталығы», Нұр-Сұлтан, Қазақстан.
E-mail: batshabar@gmail.com

ОРТАЛЫҚ АЗИЯ ШӨЛДІ ТАБИҒИ ОБА ОШАҒЫНДА ТАРАЛҒАН *YERSINIA PESTIS* ҚОЗДЫРҒЫШЫН ТАСЫМАЛДАУШЫ *XENOPSYLLA* ТУЫСЫНА ЖАТАТЫН БҮРГЕЛЕР МЕН *RHOMBOMYS OPIMUS* ПОПУЛЯЦИЯЛАРЫ

Аннотация. Инфекциялық аурулардың табиғи ошағындағы биологиялық қоғамдастық популяцияларының арасындағы өзара әрекеті көпжылдық зерттеулер пәні болып саналады. Оба микробы қоздырғыш – тасымалдаушы – таратушы жүйесінде өмір сүреді. Кеміргіш түрлері оба тасымалдаушы болып саналады. Кеміргіш бүрге түрлерінен де шығады.

Қазақстандағы обаның табиғи ошағы 10 облыста шамамен 1.1 млн. шаршы шақырым аумақты алып жатыр, адамдар арасында спорадикалық түрмен сырқаттанғандар тіркеледі. Ең үлкен және белсенді Орталық Азияның табиғи далалық ошағындағы оба тасымалдаушы – үлкен құмтышқандар (*Rhombomys opimus*), инфекция таратушы – *Xenopsylla* тектес бүргелері.

Табиғи ошақ теліміндегі *R. opimus* және *Xenopsylla* тектес бүргелер популяциясы морфометриялық әдістер арқылы анықталатын фенотиптік белгілермен ерекшеленеді. *Y. pestis*

популяциясы вируленттілігі, биохимиялық қасиеттері, өсу факторлары және басқа да қасиеттері бойынша біртекті емес болып саналады.

Қазіргі уақытта инфекциялық аурулардың табиғи ошақтарының қалыптасуы мен тіршілік ету тетіктері жеткілікті зерттелмеген. Оқшауланған аумақтардағы обалық масыл триадасы мүшелерінің ко-бейімделуінің эволюциялық механизмдерін анықтау үлкен ғылыми және тәжірибелік қызығушылық тудырып отыр.

Халықаралық геномдық банкте Орталық Азияда мекендейтін кеміргіштер мен бүргелерінің шөлдік, далалық және таулық популяциялары туралы, атап айтқанда, оба тасымалдаушылары мен таратушылары – *R. opimus*, *Xenopsylla* тектес бүргелері туралы ақпарат жоқ. Қазақстан мен көрші елдердің оба ошақтарынан *Y. pestis* генотиптеудің алдын ала деректері толық емес, генетикалық тұтас алуантүрліліктің бейнесін көрсетпейді.

Жүргізілген зерттеулер төмендегідей алға қойылған өзекті міндеттерді шешуді қамтиды. Сонымен, алғаш рет:

1. Орталық Азиялық обаның табиғи ошағының дербес ошақтарында: Балқаш маңы, Бетпақдала және Үстірталды *R. opimus* популяциясы мен *Xenopsylla* тектес бүргелерінің тіршілік ету ортасының биологиялық және экологиялық-географиялық ерекшеліктеріне салыстырмалы зерттеу жүргізілді.

2. *R. opimus* негізгі фенотипіне, *Xenopsylla* бүргесіне және дербес ошақтардағы *Y. pestis* популяцияларына талдау жасалды.

3. *R. opimus* РНҚ-ның митохондриялық геномының *цитохромы b* гені бойынша ошақ аумағындағы генетикалық нұсқаларын анықтау және популяциялардың экологиялық және географиялық оқшаулануы барысында геномдар өзгергіштігін анықтау үшін генотиптеу жүргізілді.

4. Ошақ аумағындағы генетикалық нұсқаларын анықтау және популяциялардың экологиялық және географиялық оқшаулануы барысында геномдар өзгергіштігін анықтау үшін *Xenopsylla* тектес бүргелерге митохондриялық ДНҚ генінің *Cox2* нуклеотидтік реттілігі бойынша генотиптеу жүргізілді.

5. Ошақтардағы генетикалық нұсқаларын анықтау және популяциялардың экологиялық және географиялық оқшаулануы барысында геномдар өзгергіштігін анықтау үшін *Y. pestis* штамына ДНҚ генотиптелуі жүргізілді.

Зерттеудің келесідей заманауи әдістері қолданылды: а) обаның дербес ошағы аумақтарының экологиялық ерекшеліктері және зерттеу нысандарының фенотиптік қасиеттері; б) *R. opimus* митохондриялық РНҚ генінің *CytB* нуклеотидтік реттілігін геномдық талдау; в) *COII* нуклеотидтік реттілігі және *Xenopsylla gerbil minax* бүргелерінің *tRNA-Lys* фрагменті; г) *Y. pestis* штамдарының ДНҚ генін *SNPs* әдісімен NGS толық геномдық секвенирлеу.

Осы ретте жұмыстың негізгі жаңашылдығын төмендегідей көрсетеміз:

1. *R. opimus* популяцияларының митохондриялық РНҚ генотиптеу барысында гаплотиптердің географиялық таралуы арасындағы байланыс анықталды.

2. Орталық Азия, Иран және Қытай аумағынан үлкен құмтышқан популяциясының геномына салыстырмалы талдау жүргізілді.

3. *COXII* генінің нуклеотидтер тізбегін талдау негізінде Орталық Азия далалық ошақтарының дербес ошағында өмір сүретін *Xenopsylla gerbilli minax* популяциясы генотиптелді.

4. Обаның Орталық Азиядағы табиғи далалық ошағындағы *Y. pestis* штамдар популяциясына толық геномдық секвенирлеу жүргізілді.

Ұсынылған зерттеу нәтижелері маңызды теориялық және қолданбалы мәселелерді – обалық биоценозға қатысушылардың өзгергіштігі, эволюциясы және жүйелі өзара әрекетін шешуге бағытталған.

Түйін сөздер: оба, табиғи ошағы, Оба қоздырғышы, тасымалдаушы, Үлкен құмтышқан, тасымалдаушы, *Ксенопсилла*.

Атшабар Б.¹, Нуртазин С.Т.², Шевцов³, Романкулов Э.М.³, Саякова З.¹

¹Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева Министерства здравоохранения Республики Казахстан, Алматы, Казахстан;

²Факультет биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби Министерства образования и науки Республики Казахстан, Алматы, Казахстан;

³«Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Нур-Султан, Казахстан.

E-mail: batshabar@gmail.com

ПОПУЛЯЦИИ ОСНОВНОГО НОСИТЕЛЯ *RHOMBOMYS OPIMUS*, ПЕРЕНОСЧИКОВ БЛОХ РОДА *XENOPSYLLA* И ВОЗБУДИТЕЛЯ *YERSINIA PESTIS* В ЦЕНТРАЛЬНО-АЗИАТСКОМ ПУСТЫННОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

Аннотация. Взаимовлияние популяций биологического сообщества в природных очагах инфекционных болезней является предметом многолетних исследований. Чумной микроб существует в системе возбудитель-носитель-переносчик. Носителями чумы в очагах являются различные виды грызунов. Переносчики - различные виды блох грызунов. В Казахстане природные очаги чумы занимают около 1.1 млн. кв. км территории в 10 областях, регистрируются спорадические заболевания людей. Основным носителем чумы в самом большом и активном Центрально-Азиатском природном пустынном очаге являются большие песчанки (*Rhombomys opimus*), переносчиками инфекции - их блохи рода *Xenopsylla*.

Популяции *R. opimus* и блохи рода *Xenopsylla* на участках природного очага различаются по фенотипическим признакам, что выявляется морфометрическими методами. Популяции *Y. pestis* так же не однородны по вирулентности, биохимическим свойствам, потребности в факторах роста и другим свойствам.

В настоящее время недостаточно изучены механизмы формирования и существования природных очагов инфекционных болезней. Большой научный и практический интерес представляет выявление эволюционных механизмов ко-адаптации членов чумной паразитарной триады на изолированных территориях. В международном геномном банке отсутствуют сведения о пустынных, степных и горных популяциях грызунов и их блох, обитающих в Центральной Азии, в частности о носителях и переносчиках чумы: *R. opimus*, блохах рода *Xenopsylla*. Предварительные данные генотипирования *Y. pestis* из очагов чумы Казахстана и соседних стран не полные, не дают целостной картины генетического разнообразия.

Проведенные исследования содержат решение поставленных актуальных задач. Так, впервые:

1. Проведено сопоставительное изучение биологических и эколого-географических особенностей мест обитания популяций *R. opimus* и блох рода *Xenopsylla* в автономных очагах Центрально-Азиатского природного очага чумы: Прибалхашском, Бетпакдалинском и Предустюртском.
2. Проведен анализ фенотипов *R. opimus*, блох *Xenopsylla* и популяций *Y. pestis* из автономных очагов.
3. Проведено генотипирование РНК *R. opimus* по гену *цитохрома b* митохондриального генома для определения генетических вариантов на территориях очагов и обнаружения изменчивости геномов при экологической и географической изоляции популяций.
4. Проведено генотипирование блох рода *Xenopsylla* по нуклеотидной последовательности *Сох2* гена митохондриальной ДНК для определения генетических вариантов на территориях очагов и обнаружения изменчивости геномов при экологической и географической изоляции популяций.

5. Проведено генотипирование ДНК штаммов *Y. pestis* для определения генетических вариантов на территориях очагов и обнаружения изменчивости геномов при экологической и географической изоляции популяций.

Использованы современные методы изучения: а) экологических особенностей территорий автономных очагов чумы и фенотипических свойств объектов исследования; б) геномного анализа нуклеотидной последовательности *CytB* гена митохондриальной РНК *R. opimus*; в) нуклеотидной последовательности *COII* и фрагмента tRNA-Lys блох *Xenopsylla gerbil minax*; г) полногеномное секвенирование NGS методом по *SNPs* генам ДНК штаммов *Y. pestis*.

Основной новизной работы является то, что впервые:

1. При генотипировании митохондриальной РНК популяций *R. opimus* обнаружена корреляция гаплотипов с географическим распределением.
2. Проведен сопоставительный анализ геномов популяций большой песчанки с территории Центральной Азии, Ирана и Китая.
3. На основании анализа нуклеотидной последовательности *COXII* гена генотипирована популяция *Xenopsylla gerbilli minax*, обитающая на территории автономных очагов Центрально-Азиатского пустынного очага чумы.
4. Проведено полногеномное секвенирование популяций штаммов *Y. pestis* из Центрально-Азиатского природного пустынного очага чумы.

Представленные результаты исследований направлены на решение важных теоретических и прикладных задач – изменчивости, эволюции и системного взаимодействия участников чумного биоценоза.

Ключевые слова: чума, природный очаг, *Возбудитель чумы*, носитель, *Большая песчанка*, переносчик, *Ксенопсилла*.

Information on the authors:

Bakyt Atshabar, PhD, Dr. habil. med., Chief Researcher of the Department of BioSafety and BioDefense, M. Aikimbaev's National Scientific Center for Especially Dangerous Infections (NSCEDI), Almaty: batshabar@gmail.com, Orcid: 0000-0002-5533-8805.

Sabyr T. Nurtazhin, PhD, Dr. habil. med., Professor, Al-Farabi Kazakh National University, nurtazin.sabir@gmail.com, <https://orcid.org/>

Alexandr Shevtsov, PhD, Head of Laboratory, National Center for Biotechnology, Nur-Sultan.

Erlan M. Ramankulov, PhD, General Director, National Center for Biotechnology, Nur-Sultan.

Zhaure Sayakova, к.б.н., Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Epizootology of Particularly Dangerous Infections with a museum and insectariums, NSCEDI: zsayakova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1107-6345>.

REFERENCES

[1] Wilschut L.I., LaDisoit A., Hughes N.K., Addink E.A., de Jong SM, Heesterbeek JAP, et al. (2015). Spatial distribution patterns of plague hosts: point pattern analysis of the burrows of great gerbils in Kazakhstan // *Journal of Biogeography*. 42(7) (2015), PP. 1281–1292. DOI: 10.1111/jbi.12534 (in Eng.).

[2] Yeszhanov AB, Sayakova ZZ, Sadovskaya VP, Nurtazin ST, Kabysheva NP, Zhunusova AS, Abdirasilova AA, Rysbekova AK, Atshabar BB. (2019). Some morphological peculiarities of a great gerbil (*Rhombomys opimus* Licht 1823) from the middle asia desert plague focus // *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan*. 3(333) (2019), PP. 64–72 (in Eng.).

[3] Atshabar BB, Burdelov LA, Sadovskaya VP et al. (2012) Atlas of Distribution of Especially Dangerous Infections in the Republic of Kazakhstan. Venera Firm. Kazakhstan. ISBN: 9965-15899-1 (in Russ.).

[4] Shar S, Lkhagvasuren D, Molur S. (2020) *Rhombomys opimus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T19686A115153015. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T19686A22446507.en> (in Eng.).

[5] Lapshov VA (1981) Cranial signs of a large gerbil as markers of spatial groupings of various ranks. Ecology and medical significance of gerbils of the fauna of the USSR. Abstracts of the II All-Union meeting on the ecology and medical significance of gerbils - the most important rodents in the arid zone, Moscow. P.19–25 (in Russ.).

[6] Nurtazhin ST, Shevtsov A, Lutsay V, Ramankulov EM, Sayakova ZZ, Abdirasilova AA, et al. (2019) Morphological, physiological and genetic characteristics of populations of the main plague host *Rhombomys opimus* Licht., 1823 in the Central Asian desert natural focus of plague [Acta Biomedica Scientifica] 4(5): 139-43. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.22. (in Eng.).

[7] Ito M, Jiang W, Sato JJ, Zhen Q, Jiao W, Goto K, et al. (2010) Molecular phylogeny of the subfamily *Gerbillinae* (*Muridae*, *Rodentia*) with emphasis on species living in the Xinjiang-Uyghur Autonomous Region of China and based on the mitochondrial cytochrome b and cytochrome c oxidase subunit II genes, *Zoolog Sci.*; 27:269-278. doi: 10.2108/zsj.27.269 (in Eng.).

[8] Oshaghi MA, Rassi Y, Tajedin L et al. (2011) Mitochondrial DNA diversity in the populations of great gerbils, *Rhombomys opimus*, the main reservoir of cutaneous leishmaniasis, *Acta Trop.*, 119(2-3):165-171. doi: 10.1016/j.actatropica.2011.05.010. Epub 2011 Jun 7 (in Eng.).

[9] Bakhshi H, Oshaghi MA, Abai MR et al. (2013) MtDNA CytB Structure of *Rhombomys opimus* (*Rodentia: Gerbillidae*), the Main Reservoir of Cutaneous Leishmaniasis in the Borderline of Iran-Turkmenistan, *J Arthropod Borne Dis.*, 7(2):173–184. PMID: 24409443 (in Eng.).

[10] Korzun VM, Tokmakova EG, Fomina LA, Sotnikova TV (2009) Population organization of the population of specific flea species of the Mongolian pika in the Altai Mountains [News of Irkutsk State University. Series "Biology. Ecology"] 2(1):108–112. <http://isu.ru/izvestia> (in Russ.).

[11] Reijnders J, Begon M, Ageyev VS, Leirs H. (2014) Plague epizootic cycles in Central Asia, Royal society publishing;10(6). rsbl.royalsocietypublishing.org Biol. Lett. 10: 20140302. doi.org/10.1098/rsbl.2014.0302 (in Eng.).

[12] Zhang Y, Dai X, Wang Q, Chen H et al. (2015) Transmission efficiency of the plague pathogen (*Y. pestis*) by the flea, *Xenopsylla skrjabini*, to mice and great gerbils, *Parasites & Vectors*, 8:256. DOI 10.1186/s13071-015-0852-z. (in Eng.).

[13] Dyatlov AI (1989) Evolutionary Aspects in the Natural Plague Nidality, Stavropolskoye Book House, Stavropol:196 IB: 2671 (in Russ.).

[14] Lowell JL, Zhansarina A, Yockey B, Meka-Mechenko T, Stybayeva G, Atshabar B, et al. (2007) Phenotypic and molecular characterizations of *Yersinia pestis* isolates from Kazakhstan and adjacent regions, *Microbiology*, 153:169-77. DOI 10.1099/mic.0.29059-0 (in Eng.).

[15] Martinevskiy IL, Stepanov VM, Kenzhebayev, AY (1990) Taxonomy, Mutation and Genetics of Pathogenicity of *Yersinia pestis* and Related Microbes. Karakalpakstan Publishing House, Nukus. ISBN: 5-8272-0263-0 (in Russ.).

[16] Achtman M, Morelli G, Zhu P, Wirth T, Diehl I, Kusecek B, et al. (2004) Microevolution and history of the plague bacillus *Yersinia pestis*, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(51):17837-42. doi.org/10.1073/pnas.0408026101 (in Eng.).

[17] Nekrasova LE, Жолшоринов АЖ, Мека-Меченко ТВ, Турегельдиева ДА, Сыздыков МС, Тугамбаев ТИ, et al. (2012) Внедрение системы управления рисками на опасных биологических объектах Казахстана (руководство для практических работников). Типография ГИС-принт, Казахстан. ISBN: 9965-15-952-1 (in Russ.).

[18] Coyne SR, Craw PD, Norwood DA, Ulrich MP (2004) Comparative Analysis of the Schleicher and Schuell IsoCode Stix DNA Isolation Device and the Qiagen QIAamp DNA Mini Kit, *Journal Clinical Microbiology*, 42(10): 4859–62. doi: 10.1128/JCM.42.10.4859-4862.2004 (in Eng.).

[19] Kent RJ, Norris DE (2005) Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B, *Am J Trop Med Hyg.*, 73:336–42. PMID: PMC4147110. NIHMSID: NIHMS618466. PMID: 16103600 (in Eng.).

[20] Vila C, Amorim IR, Leonard JA, Posada D, Castroviejo J, Petrucci-Fonseca F, et al. (1999) Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*, *Molecular Ecology*, 8:2089–103. doi:10.1046/j.1365-294x.1999.00825.x. (in Eng.).

[21] Werle E, Schneider C, Renner M, Völker M, Fiehn W (1994) Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing, *Nucleic Acids Res.*, 22:4354-55. doi: 10.1093/nar/22.20.4354 (in Eng.).

[22] Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0, *Mol Biol Evol.*, 2013;12:2725-29. doi: 10.1093/molbev/mst197. Epub 2013 Oct 16 (in Eng.).

[23] Mastitsky SE, Shitikov VK (2014) Statistical analysis and data visualization using R. Heidelberg - London - Tolyatti, 401. <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/R/Mastitsky%20and%20Shitikov%202014> (in Russ.).

[24] Mytsik AV (2011) Using ImageJ for automatic morphometry in histological studies, [*Omsk Scientific Scientific Bulletin*] 2 (100):187-189 (in Russ.).

[25] Halos L, Jamal T, Vial L, Maillard R, Suau A, Menach AL, et al. Determination of an Efficient and Reliable Method for DNA Extraction From Ticks (2004) *Vet Res.*, 35(6):709-13. doi: 10.1051/vetres:2004038 (in Eng.).

[26] Miller KWM, Bracewell RR, Eisen MB, Bachtrog D (2017) Patterns of Genome-Wide Diversity and Population Structure in the *Drosophila athabasca* Species Complex, *Mol. Biol. Evol.*, 34:1912-1923. doi: 10.1093/molbev/msx134 (in Eng.).

МАЗМУНЫ – СОДЕРЖАНИЕ – CONTENTS

Abdimutalip N.A., Tulpan Zh., Gul K.

STUDY OF THE INFLUENCE OF BIOREGULATORS ON THE PRODUCTIVITY AND DEVELOPMENT OF PLANTS GROWN BY HYDROPONICS.....5

Atshabar B., Nurtazhin S.T., Shevtsov A., Ramankulov E.M., Sayakova Z.

POPULATIONS OF THE MAJOR CARRIER RHOMBOMYS OPIMUS, VECTORS OF XENOPSYLLA FLEAS AND THE CAUSATIVE AGENT OF YERSINIA PESTIS IN THE CENTRAL ASIAN DESERT NATURAL FOCUS OF PLAGUE.....15

Babaeva G., Salybekova N., Serzhanova A., Esin Basim

BIOLOGICAL FEATURES OF SPECIES OF PHYTOPATHOLOGICAL FUNGI AFFECTING TOMATOES (LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL.) IN THE SOUTHERN REGION OF KAZAKHSTAN.....26

Vasilie O.A., Semenov V.G., Tuleubayev Zh., Vasiliev A.O., Sarsembayev A.

LOESS LIKE LOAMS AS A SOIL FORMATION FACTOR FOR LIGHT-GRAY FOREST SOILS IN THE CHEBOKSARY REGION OF THE CHUVASH REPUBLIC.....36

Dyulger G.P., Dyulger P.G., Alikhanov O., Sedletskaya E.S., Latynina E.S.

EPIDEMIOLOGY, RISK FACTORS AND PATHOMORPHOLOGICAL FEATURES OF MAMMARY TUMORS IN CATS.....45

Kawamoto Yoshi, Nurtazin S., Shevtsov A., Romankulov E, Lutsay V.

ENVIRONMENTAL, BIOLOGICAL AND GENETIC FEATURES OF CERTAIN POPULATIONS OF GREAT GERBIL (*Rhombomys opius* Licht., 1823) OF KAZAKHSTAN.....53

Kerimzhanova B., Jumagazyeva A., Akhatullina N., Iskakbayeva Zh., Sakhipov E.

THE INHIBITING EFFECT OF FS-1 DRUG ON THE ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM OF MYCOBACTERIA TUBERCULOSIS.....64

Toychibekova G.B., Kaldybaeva A., Gul K.

RESEARCH OF GROWTH, DEVELOPMENT AND PRODUCTIVE PROCESSES OF PLANTS GROWN IN BIOCONTAINERS.....74

Zhao Y., Myrzakhmet A., Mashekova A. *, EYK Ng, Mukhmetov O.

3D NUMERICAL STUDY OF TEMPERATURE PATTERNS IN A FEMALE BREAST WITH TUMOR USING A REALISTIC MULTI-LAYERED MODEL.....84

Chugreev M.K., Baimukanov D.A., Blokhin G.I., Malovichko L.V., Zubaliy A.M.

THE CURRENT STATE OF THE EUROPEAN DARK BEE SUBSPECIES *Apis mellifera mellifera* L. IN THE NORTH RANGE OF THE RUSSIAN FEDERATION.....93

Publication Ethics and Publication Malpractice
in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journalauthors/ethics>. Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайтах:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

Редакторы: М.С. Ахметова, Д. С. Аленов, А. Ботанқызы
Верстка на компьютере Зикирбаева В.С.

Подписано в печать 15.04.2021.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
4,6 п.л. Тираж 300. Заказ 2.