

**Аннотация.** Қазіргі таңда, микробтық консорциумдар биоинженерия мен индустриялық биотехнология үшін олардың тиімділігін, сонымен қатар олардың ары қарай дамуының екпінін анықтайдын өсудің «жедел нұктесі» деген пікір қалыптасқан. Топырақ құнарлығын жоғарылату, пробиотиктар өндірісі мен жемдік қоспалар секілді препараторларды алу мен тағам өндірісі сияқты биотехнологияның түрлі салаларында микроорганизмдер ассоциациясы сәтті қолданылатындығы туралы, сонымен қатар олардың тіршілік жағдайлары қарастырылмаған жағдайдағы сәтсіздік себептері туралы мысалдар келтірлген. Түрлі экологиялық текшелер үшін микробтық препараторларды сәтті өндіру үшін, олар корек көзіне бәсекелес микроорганизмдерге қатысты антагонистік белсенділігі жоғары болуы керек, сонымен қатар нақты бәсекелес жағдайда өсу жылдамдығы жоғары болуы тиіс. Тұракты әрі өнімді консорциум жасау үшін, оның құрамына кіретін микроорганизмдер өзара тағамдық тізбекпен байланысқан болуы және бірінін өсуін бірі тежемеуі тиіс. Бұл жағдайда тиімдісі, құрамына кіретін микроорганизмдері бірімен бірі симбиоз немесе мутуалдық қатынастағы консорциумдарды қолданған кезде сәтті нәтиже болуы мүмкін. Белсенді микроорганизмдерді сұрыптау мен олардың біріне бірі бейімделуі үздіксіз культивирлеу кезінде сәтті жүзеге асады.

Поступила 31.07.2015 г.

## N E W S

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

## SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 310 (2015), 129 – 136

## MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF PLANT PATHOGENIC FUNGI, INFECTS SOYBEAN IN ALMATY REGION

A. I. Seitbattalova, S. T. Daugalieva, O. N. Shemshura, E. T. Ismailova

Institute of Microbiology and Virology, Committee of Science,  
Ministry of Science and Education, Almaty, Kazakhstan.  
E-mail: aika2006\_81@mail.ru

**Keywords:** phytopathogenic fungi, *Fusarium*, *Alternaria*, morphological and microscopic characteristics ITS-DNA regions, primers, sequencing.

**Abstract.** As a result of studies on the morphological characteristics of plant pathogenic fungi that infect soybean in the Almaty region, allowed to determine their tribal affiliation.

The total cellular DNA from *Fusarium* and *Alternaria* fungi has been isolated by the CTAB method. The PCR has been carried out with ITS5 (5'-GGAAGTAAAGTCGTAAACAAGG-3'), and ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primers. Bioinformaticdata analysis and homology search of the nucleotide sequences have been performed using available genetic database of GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

We have found that the CTAB method is optimal to use for genomic DNA extraction from a purifiedfungi culture. Sequencing of the fungal DNA allowed identifying species of *Fusarium* and *Alternaria*. Determined nucleotide sequences of isolated fungi completely matched with sequences of similar fungal region available in GenBank database. According to the phylogenetic analysis based on the comparison of DNA sequences of ITS region, the strain of *Fusarium* sp.has been grouped in a separate cluster composed of similar strains of *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum*, and *F. campoceras*; whereas, the strain of *Alternaria* sp. is very similar to *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. compacta*, and *A. porris*species.

## **МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ СОЮ В АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**А. И. Сейтбатталова, С. Т. Даугалиева, О. Н. Шемшура, Э. Т. Исмаилова**

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

**Ключевые слова:** фитопатогенные грибы, *Fusarium*, *Alternaria*, морфолого-микроскопическая характеристика, ITS-регионы ДНК, праймеры, секвенирование.

**Аннотация.** В результате проведенных исследований морфологических особенностей фитопатогенных грибов, поражающих сою в Алматинской области, определена их родовая принадлежность.

Проведено изолирование суммарной клеточной ДНК из грибов *Fusarium Alternaria* при помощи СТАВ-метода. Реакция ПЦР была выполнена с праймерами ITS 5' 5' – ggaagtaaaagtcgttaacaagg-3' и ITS 4' 5' - tcctccgcatttattgataatgc-3'. Биоинформационный анализ и поиск гомологических нуклеотидных последовательностей проведен в открытой базе генетических данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Установлено, что использование СТАВ-метода для экстракции геномной ДНК из чистой культуры гриба является оптимальным. В результате исследований сиквенса грибовода *Fusarium* и *Alternaria* удалось идентифицировать видовую принадлежность. Сравнение нуклеотидных последовательностей с базой данных GenBank показало 100% степень сходства районов выделенных нами грибов с имеющимися в базе данных. Согласно филогенетическому анализу, основанному на сравнении последовательностей ДНК ITS региона, штаммы *Fusarium* spp. сгруппированы в отдельный кластер, который имеет большее сходство с *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum* и *F. campoceras*. Штаммы *Alternaria* spp. имеют большое сходство с *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. compacta*, *A. porri*.

**Введение.** Фитопатогенные грибы являются многочисленной и вредоносной группой возбудителей болезней растений, приводящей к значительным потерям урожайности сельскохозяйственных культур. Для своевременного применения средств защиты растений от болезней и контроля зараженности фитопатогенными грибами необходима их детекция и точная идентификация. В последние годы для идентификации фитопатогенных микроорганизмов применяется молекулярно-генетический метод. Он превосходит традиционные методы по специфичности, чувствительности, быстроте проведения анализа, производительности, и служит их существенным дополнением [1-6].

Идентификация фитопатогенных грибов необходима для изучения их таксономии и эволюции, их взаимоотношений с растениями-хозяевами, генетических основ восприимчивости и устойчивости растений, что, в конечном счете, должно помочь в разработке способов борьбы с патогенами и в селекции растений, невосприимчивых к болезням [7-10].

В полевых условиях предварительный диагноз болезней, вызываемых фитопатогенными грибами, ставят по проявлению симптомов заболевания, а точную идентификацию возбудителя проводят в лаборатории, главным образом по морфолого-культуральным признакам патогена с применением методов микроскопии и культивирования на питательных средах. Однако, морфологические характеристики спор у близкородственных видов микромицетов могут совпадать, а внутри одного вида значительно варьировать. Кроме того, симптомы болезни могут проявляться нетипично или заболевание может проходить в скрытой форме [11-14].

В связи с этим, применение более чувствительных методов является актуальным и востребованным в диагностике фитопатогенных микроорганизмов.

### **Материалы и методы**

Объектом исследований являлись штаммы микроскопических грибов рода *Fusarium*, *Alternaria*, выделенные из пораженных семян сои, произрастающей в Алматинской области.

Выделение и учет микромицетов осуществлялись стандартными микологическими методами [15-18]. Морфологические свойства и скорость роста грибов изучали при культивировании на

среде картофельно-глюкозный агар при температуре +24°C. Микроскопический анализ проводили с помощью оптического микроскопа с использованием цифрового изображения (IM 500 – Leica).

Для выделения геномной ДНК штаммы грибов культивировали на жидкой картофельной среде, содержащей 30 г/л сахарозы, в течение 5 суток. Затем в стерильных условиях биомассу грибов весом 100-200 мг переносили в микропробирки и помещали в криотермостат при -70°C на 15-20 минут.

Экстракцию геномной ДНК проводили с использованием СТАВ-буфера (2М Tris, 5 М NaCl, 0,5 М EDTA, 5% СТАВ). Предварительно замораживали пробы весом 100-200 мг в микропробирках при -70°C в течение 15 минут. Затем пробы гомогенизировали в 600 мкл СТАВ-буфера, предварительно нагревшего до 65°, инкубацию проводили в термостате 1 час при температуре 56°C. Затем к пробам добавляли 600 мкл хлороформ-изопропаноловой смеси и оставляли при комнатной температуре в течение 1 часа. После этого проводили центрифugирование при 3000 об/мин в течение 5 минут, супернатант без интерфазы переносили в чистые пробирки. Осаждение ДНК проводили изопропанолом при комнатной температуре в течение 10-12 часов.

После этого проводили центрифугирование при 12000 об/мин в течение 10 мин для удаления супернатанта, осадок подсушивали и растворяли его в 20 мкл воды. Электрофорез проводили в 1% агарозном геле, в камере с ТЕ-буфером при 299 mA и 90 V в течение 15 минут, детекцию ДНК осуществляли в УФ-свете.

ПЦР проводили с использованием прямого праймера. Реакция ПЦР была выполнена с праймерами ITS 5 5' – ggaagtaaaagtgcgttaacaagg-3' и ITS 4 5'- tcctccgcttttgatatgc-3'. Очистку ПЦР продуктов от не связавшихся праймеров проводили, ферментативным методом используя, Exonuclease I (Fermentas) и щелочную фосфатазу (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas) [19, 20].

Анализ нуклеотидной последовательности ITS-области ДНК проводили с помощью автоматического секвенатора ABI Prism 377 (Applied Biosystems) с использованием ABI PrismBigDye Terminator v3.0 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit согласно протоколам производителя. Биоинформационный анализ данных и поиск гомологических нуклеотидных последовательностей проводили в открытой базе генетических данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Для построения филогенетических деревьев использовали программное обеспечение – Mega 5. Использовали алгоритм ClustalW для выравнивания нуклеотидных последовательностей, построение древ проводили с использованием метода присоединения ближайших соседей (Neighbor-Joining NJ).

### Результаты исследований и их обсуждение

На начальном этапе работы по идентификации выделенных из пораженных семян сои в чистую культуру грибов, основаны на морфолого-культуральных признаках. Изучение морфологических свойств позволило определить родовую принадлежность фитопатогенных грибов.

Грибы рода *Fusarium* образовывали быстрорастущие бежевые пушистые колонии, имеющие легкий пурпурный оттенок, гифы септированные, бесцветные. При микроскопии обнаруживались многочисленные макроконидии – 3-5 клеточные, от слегка серповидно изогнутых до почти прямых, веретеновидные с закругленными кончиками.

Выделенные грибы рода *Alternaria* образовывали серо-оливковый воздушный мицелий, гифы септированные, светло-коричневые, конидий коричневые, разнообразные по форме – обратно-булавовидные, обратногрушевидные, муральные, с 3-8 поперечными и 1-2 продольными перегородками, спороношение обильное (рисунок 1).

Эти характерные морфологические признаки позволили идентифицировать изоляты как грибы рода *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp.

В ходе проведенной молекулярно-генетической диагностики было выявлено наличие генетического материала патогенов. Результаты молекулярно-генетических исследований показали, что использование СТАВ метода для экстракции геномной ДНК из чистой культуры гриба является оптимальным. Детекция результатов экстракции при помощи NanoDrop 2000c показала положительный результат высокого содержания в пробе тотальной ДНК.



Рисунок 1 – Грибы рода *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp., выделенные из пораженных семян сои

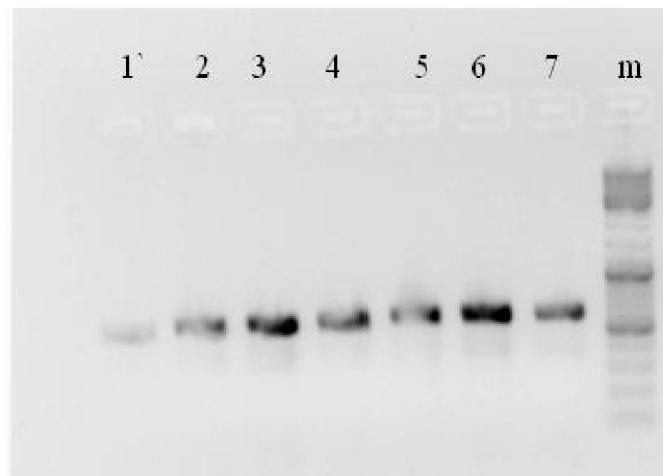


Рисунок 2 – Электрофореграмма ПЦР продуктов амплификации ITS региона:  
1–7 образцы, нумерация согласно п/н; (M) маркер молекулярного веса (Fermentas)  
(100–10000 п.н., от 100–1000 шаг 100 п.н.)

В результате проведения ПЦР, как видно из рисунка 2, во всех образцах присутствует специфическая полоса, свидетельствующая об амплификации ITS региона. Следует также отметить, что расположение фракций на электрофореграмме зависело от размера выявляемого фрагмента ДНК патогена и являлось величиной видоспецифичной. Данный признак использовался в качестве первичного критерия при проведении идентификации возбудителя заболевания.

В результате исследований сиквенса грибов родов *Fusarium* и *Alternaria* подтвердилась их родовая принадлежность. Сравнение нуклеотидных последовательностей с базой данных GenBank показало 100% степень сходства районов выделенных нами грибов с имеющимися в базе данных.

Нуклеотидные последовательности были анализированы и объединены в общую последовательность в программном обеспечении SeqMan (DNA Star). После чего были удалены концевые фрагменты (нуклеотидные последовательности праймеров, фрагменты, имеющие низкий пока-

затель качества). Полученные последовательности были идентифицированы в GeneBank по алгоритму BLAST. Согласно филогенетическому анализу, основанному на сравнении последовательностей ДНК ITS региона, штаммы *Fusarium* sp. сгруппированы в отдельный кластер, который имеет большее сходство с *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum*, *F. arthrosporioides* и *F. torulosum*(рисунок 3, 4).

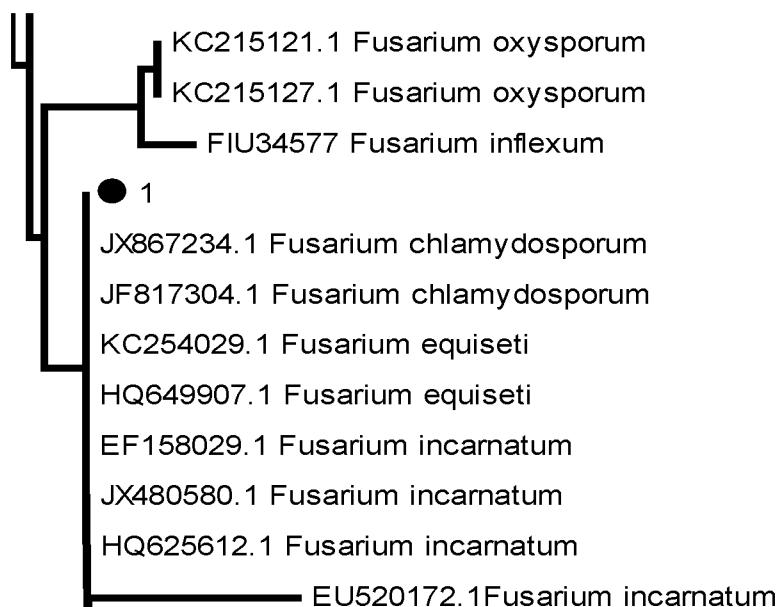


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Fusarium*

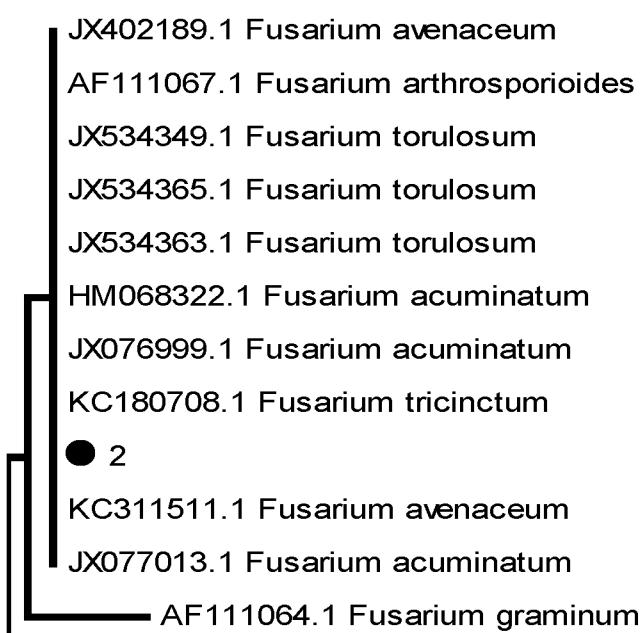


Рисунок 4 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Fusarium*

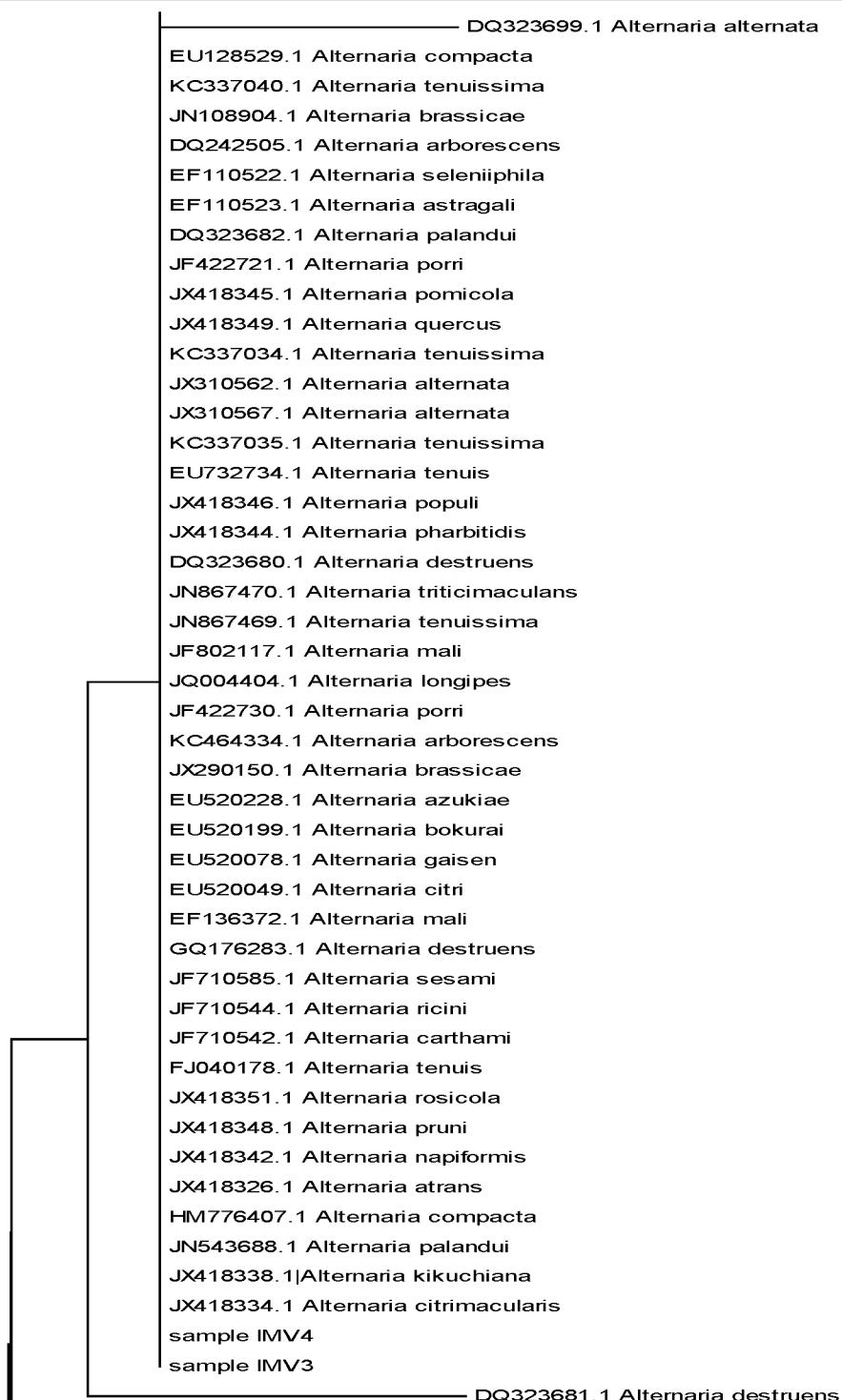


Рисунок 5 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Alternaria*

Нуклеотидная последовательность образцов 3 и 4 (грибы рода *Alternaria*) расположена на одной ветви с представителями *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria porri*, *Alternaria astragali*, *Alternaria palandui* и др. (рисунок 5). Учитывая высокую идентичность этого рода, данная последовательность имела максимальную идентичность при использовании BLAST с несколькими видами.

Проведенное секвенирование нуклеотидной последовательности ITS-регионов ДНК штаммов грибов показало, что последовательности ДНК ITS регионов грибов рода *Fusarium* и *Alternaria* имели схожесть по родовым принадлежностям, поэтому в дальнейшем планируется установление видовой принадлежности микромицетов и определение структуры их популяции.

Таким образом, для выявления фитопатогенных организмов, необходимо использовать диагностическую систему, которая включает весь спектр фитопатологических (симптомы заболеваний растений), микробиологических (выделение патогена в чистую культуру, культурально-морфологические и микроскопические исследования) и молекулярно-генетических характеристик возбудителей болезней сельскохозяйственных растений.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Санин С.С. Роль сорта в интегрированной защите зерновых культур // Защита и карантин растений. 2007. №3. С. 16.
- [2] Eyal Z. Physiologic specialization of *Septoriatrifolii* / Z. Eyal, Z. Amiri, I. Wahl // Phytopathology. 1973. Vol. 63; №9, P. 1087-1091.
- [3] Kulik T. Detection of *Fusariumtricinctum* from cereal grain using PCR assay // Journal Appl Genet. Vol 49 (3). 2008. P. 305–311.
- [4] Abd-Elsalam K.A., Aly I.N., Abdel-Satar M.A., Khalil M.S., Verreet J. A. PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data // African Journal of Biotechnology. 2003. Vol. 2 (4).P. 82-85.
- [5] Арефьев В. А., Лисовенко Л. А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов / Науч. ред. Л. И. Патрушев. Москва: Изд-во ВНИРО, 1995.407с.
- [6] Gerbi S. A. Evolution of ribosomal DNA // In: Molecular Evolutionary Genetics. N. Y.: Plenum.1985. P. 419-517.
- [7] Narayanasamy P. Presentation of essential and latest information on detection of fungal plant pathogens and diagnosis of the diseases caused by them // Microbial Plant Pathogens - Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens. 2011. Vol. 1. P. 1-4.
- [8] Lievens B., Brouwer M., Vanachter A.C.R.C., Levesque C.A., Cammue B.P.A. & Thomma B.P.H.J. Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA macroarray // Environmental Microbiology. 2005. Vol.17. №11. P. 1698-1710.
- [9] Kristensen R., Torp M., Kosiak B. & Holst-Jensen A. Phylogeny and toxicogenic potential is correlated in *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences // Mycological Research. 2005. Vol.109. №2. P. 173–186.
- [10] Yli-Mattila T., Paavanen S., Hannukkala A., Parikka P., Tahvonen R., Karjalainen R. Isozyme and RAPD-PCR analyses of *Fusariumavenaceum* strains from Finland // Plant Pathol., 1996. Vol. 45.P. 126-134.
- [11] Grimm C., Geisen R. A PCR-ELISA for the detection of potential fumonisin producing *Fusarium* species // Letters Application of Microbiology. 1988, № 1, Vol. 26.,P. 456-462.
- [12] Baird R., Hamed K. Abbas, Windham G., Williams P., Baird S., Ma P., Kelley R., Hawkins L., Scruggs M. Identification of Select Fumonisin Forming *Fusarium* Species Using PCR Applications of the Polyketide Synthase Gene and its Relationship to Fumonisin Production in vitro // International Journal Molecular Sciences. 2008, № 9.,P. 554-570.
- [13] Batista J.F., Santos N.T., Oliveira A.P.D., Pires C.M.S., Motta and Luna-Alves Lima E.A. Genetic characterization of Brazilian strains of *Aspergillusflavus* using DNA markers // Genetics and Molecular Research. 2008, № 7. Vol. 3.P. 706-717.
- [14] Barnes, C.W. & Szabo, L.J. (2007). Detection and identification of four common rust pathogens of cereals and grasses using real-time polymerase chain reaction // Phytopathology. 2007.Vol.97. No.6.P. 717-727.
- [15] Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Московский Университет. 1983. С. 220.
- [16] Емцев В.Т., Мипустин Е.Н. Микробиология. Москва. 2005. С. 444.
- [17] Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М.: Мир. 2001. С. 3-5.
- [18] WhiteT.J. AmplificationanddirectsequencingoffungalribosomalDNAGenesforphylogenetics / T.J. White, T. Bruns, S.B. Lee, J.W- Taylor // PCRProtocolaGuidetoMethodsandApplications. AcademicPress. 1990.N.Y. P.315-322.
- [19] Лтуэлин М.Б. Определение нуклеотидной последовательности ДНК. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. М.: Мир, 1999. С. 428 - 447.
- [20] FredlundE.,GidlundA., Olsen M., BörjessonT., HytteSpliid H.N., Simonsson M. Method evaluation of *Fusarium* DNA extraction from mycelia and wheat for down-stream real-time PCR quantification and correlation to mycotoxin levels // Journal of Microbiological Methods. 2008, №73.P. 33–40.

## REFERENCES

- [1] Sanin S.S. Role of species in integrated management of cereals // Plant Protection and Quarantine. 2007. №3. p. 16. (in Russ.).
- [2] Eyal Z. Physiologic specialization of *Septoriatrifolii* /Z. Eyal, Z. Amiri, I. Wahl // Phytopathology. 1973.V. 63; №9, P. 1087-1091.
- [3] Kulik T. Detection of *Fusariumtricinctum* from cereal grain using PCR assay // Journal Appl Genet.Vol 49 (3). 2008. P. 305–311.

- [4] Abd-Elsalam K.A., Aly I.N., Abdel-Satar M.A., Khalil M.S., Verreet J. A. PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data // African Journal of Biotechnology. 2003. Vol. 2 (4). P. 82-85.
- [5] Aref'ev V.A., Lisovenko L. A. English-Russian Dictionary of Genetic Terms. Ed. L.I. Patrushev. Moskva: Izd-vo VNIRO, 1995. 407p.
- [6] Gerbi S.A. Evolution of ribosomal DNA // In: Molecular Evolutionary Genetics. N. Y.: Plenum. 1985. P. 419-517.
- [7] Narayanasamy P. Presentation of essential and latest information on detection of fungal plant pathogens and diagnosis of the diseases caused by them // Microbial Plant Pathogens - Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens. 2011. Vol. 1. P. 1-4.
- [8] Lievens B., Brouwer M., Vanachter A.C.R.C., Levesque C.A., Cammue B.P.A. & Thomma B.P.H.J. Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA macroarray // Environmental Microbiology. 2005. Vol. 7. №11. P. 1698-1710.
- [9] Kristensen R., Torp M., Kosiak B. & Holst-Jensen A. Phylogeny and toxicogenic potential is correlated in *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences // Mycological Research. 2005. Vol. 109. №2. P. 173-186.
- [10] Yli-Mattila T., Paavanen S., Hannukkala A., Parikka P., Tahvonen R., Karjalainen R. Isozyme and RAPD-PCR analyses of *Fusarium mavenaceum* strains from Finland // Plant Pathol., 1996. Vol. 45. P. 126-134.
- [11] Grimm C., Geisen R. A PCR-ELISA for the detection of potential fumonisin producing *Fusarium* species // Letters Application of Microbiology. 1988, №1. Vol. 26. P. 456-462.
- [12] Baird R., Hamed K., Abbas, Windham G., Williams P., Baird S., Ma P., Kelley R., Hawkins L., Scruggs M. Identification of Select Fumonisin Forming *Fusarium* Species Using PCR Applications of the Polyketide Synthase Gene and its Relationship to Fumonisin Production in vitro // International Journal Molecular Sciences. 2008, №9. P. 554-570.
- [13] Batista J.F., Santos N.T., Oliveira A.P.D., Pires C.M.S., Motta and Luna-Alves Lima E.A. Genetic characterization of Brazilian strains of *Aspergillus flavus* using DNA markers // Genetics and Molecular Research. 2008, № 7. Vol. 3. P. 706-717.
- [14] Barnes, C.W. & Szabo, L.J. (2007). Detection and identification of four common rust pathogens of cereals and grasses using real-time polymerase chain reaction // Phytopathology. – 2007. Vol. 97. No. 6. P. 717-727.
- [15] Egorov N.S. Guide to practical training in microbiology. Moscow University. 1983. p. 220. (in Russ.).
- [16] Emcev V.T., Mishustin E.N. Microbiology. Moskva. 2005. p. 444. (in Russ.).
- [17] Satton D., Fotergill A., Rinaldi M. The determinant of pathogenic and opportunistic fungi. M: Mir. 2001. p. 3-5. (in Russ.).
- [18] White T.J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenetics / T.J. White, T. Bruns, S.B. Lee, J.W- Taylor // PCR Protocol a Guide to Methods and Applications. Academic Press. 1990. N.Y. P.315-322.
- [19] Llujelin M.B. Determination of nucleotide sequence of DNA. Molecular Clinical Diagnostics. Metody. M: Mir, 1999. p. 428 - 447. (in Russ.).
- [20] Fredlund E., Gidlund A., Olsen M., Börjesson T., HytteSpliid H.N., Simonsson M. Method evaluation of *Fusarium* DNA extraction from mycelia and wheat for down-stream real-time PCR quantification and correlation to mycotoxin levels // Journal of Microbiological Methods. 2008, №73. P. 33-40.

## АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДА ӨСЕТИН ҚЫТАЙБҮРШАҚ ӨСІМДІГІН ЗАҚЫМДАЙТИҢ ФИТОПАТОГЕНДІ САНЫРАУҚҰЛАҚТАРДЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ МОЛЕКУЛЯРЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

А. И. Сейітбатталова, С. Т. Дауғалиева, О. Н. Шемшур, Э. Т. Ысмайылова

ҚР БФМ ФК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

**Тірек сөздер:** фитопатогенді санырауқұлактар, *Fusarium*, *Alternaria*, морфологиялық-микроскопиялық сипаттама, ДНҚ-ның ITS-аумактары, праймерлер, секвенирлеу.

Зерттеулер нәтижесінде Алматы облысында өсетін қытайбүршақ өсімдігін зақымдайтын фитопатогенді санырауқұлактардың морфологиялық ерекшеліктері бойынша, олардың қандай туысына жататыны анықталды.

СТАВ-әдісі арқылы *Fusarium*, *Alternaria* санырауқұлактарынан жасушалық ДНҚ бөлініп алынды. ПТР реакциясы ITS 5' – ggaaggtaaaagtctgttcaacaagg-3' және ITS 4 5'- tcctccgcgttttgatatgc -3' праймерлермен журғізілді. GenBank генетикалық мәліметтер ашық базасында (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) биоинформатикалық және гомологиялық нуклеотидтік тізбекшесін іздеу жүргізілді.

Санырауқұлактарды сиквенерлеу нәтижесінде *Fusarium* және *Alternaria* санырауқұлактардың түріне жататыны анықталды. Бөлініп алынған санырауқұлактардың GenBank мәліметтер базасында нуклеотидтік тізбектерін салыстырғанда 100% ұқсастығын көрсетті. ДНҚ-ның ITS-аумактарының тізбектерін салыстыру негізделген, филогенетикалық талдауға сойкес *Fusarium* sp. штамдары жеке кластерге топталды, олар *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum* және *F. campoceras* санырауқұлактарымен ұқсас, сонымен қатар *Alternaria* sp. санырауқұлактары *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. compacta*, *A. Porri*-мен ұқсас болды.

Поступила 31.07.2015 г.