

ISSN 2224-5308

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



**СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ**



**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

4 (310)

ШІЛДЕ – ТАМЫЗ 2015 ж.

ИЮЛЬ – АВГУСТ 2015 г.

JULY – AUGUST 2015

1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі

Ж. А. Арзықұлов

Р е д а к ц и я а л қ а с ы:

биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Айтхожина Н.А.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Байгулин И.О.** (бас редактордың орынбасары); биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Берсімбаев Р.И.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Бишімбаева Н.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Күзденбаева Р.С.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА академигі **Рахышев А.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ақшолақов С.К.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Алшынбаев М.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Березин В.Э.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Ботабекова Т.К.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Жамбакин К.Ж.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Қайдарова Д.Р.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Локшин В.Н.**; биол. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Огарь Н.П.**; мед. ғ. докторы, проф., ҚР ҰҒА корр. мүшесі **Рахыпбеков Т.К.**

Р е д а к ц и я к е ñ е с і:

Абжанов Архат (Бостон, АҚШ); **Абелев С.К.** (Мәскеу, Ресей); **Лось Д.А.** (Мәскеу, Ресей); **Бруно Луненфелд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); философия докторы, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Ұлыбритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Ұлыбритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, АҚШ); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, ҚХР)

Главный редактор

академик НАН РК

Ж. А. Арзыкулов

Редакционная коллегия:

доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.А. Айтхожина**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **И.О. Байтулин** (заместитель главного редактора); доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Р.И. Берсимбаев**; доктор биол. наук, проф., академик НАН РК **Н.К. Бишимбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **Р.С. Кузденбаева**; доктор мед. наук, проф., академик НАН РК **А.Р. Рахишев**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **С.К. Акшулаков**, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **М.К. Алчинбаев**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Э. Березин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Ботабекова**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **К.Ж. Жамбакин**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Д.Р. Кайдарова**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **В.Н. Локшин**; доктор биол. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Н.П. Огарь**; доктор мед. наук, проф., чл.-корр. НАН РК **Т.К. Рахыпбеков**

Редакционный совет:

Абжанов Архат (Бостон, США); **С.К. Абелев** (Москва, Россия); **Д.А. Лось** (Москва, Россия); **Бруно Луненфельд** (Израиль); доктор, проф. **Харун Парлар** (Мюнхен, Германия); доктор философии, проф. **Стефано Перни** (Кардиф, Великобритания); **Саул Пуртон** (Лондон, Великобритания); **Сапарбаев Мурат** (Париж, Франция); **Сарбассов Дос** (Хьюстон, США); доктор, проф. **Гао Энджун** (Шэньян, КНР)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская». ISSN 2224-5308

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, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2015

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

Editor in chief

Zh.A. Arzykulov,
academician of NAS RK

Editorial board:

N.A. Aitkhozhina, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **I.O. Baitulin**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK (deputy editor); **R.I. Bersimbayev**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **N.K. Bishimbayeva**, dr. biol. sc., prof., academician of NAS RK; **R.S. Kuzdenbayeva**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **A.R. Rakhishev**, dr. med. sc., prof., academician of NAS RK; **S.K. Akshulakov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **M.K. Alchinbayev**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.E. Berezin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Botabekova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **K.Zh. Zhambakin**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **D.R. Kaidarova**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **V.N. Lokshin**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK; **N.P. Ogar**, dr. biol. sc., prof., corr. member of NAS RK; **T.K. Rakhypbekov**, dr. med. sc., prof., corr. member of NAS RK

Editorial staff:

Abzhanov Arkhat (Boston, USA); **S.K. Abelev** (Moscow, Russia); **D.A. Los** (Moscow, Russia); **Bruno Lunenfeld** (Israel); **Harun Parlar**, dr., prof. (Munich, Germany); **Stefano Perni**, dr. phylos., prof. (Cardiff, UK); **Saparbayev Murat** (Paris, France); **Saul Purton** (London, UK); **Sarbassov Dos** (Houston, USA); **Gao Endzhun**, dr., prof. (Shenyang, China)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2224-5308

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, issued 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, 272-13-18,
<http://nauka-nanrk.kz> / biological-medical.kz

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2015

Address of printing house: ST "Aruna", 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 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'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'), and ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primers. Bioinformatic data 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 purified fungi 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. porri* 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' – ggaagtaaaagtcgtaacaagg-3' и ITS 4' 5' – tcctccgctattgatgac-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 грибов рода *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* sp. сгруппированы в отдельный кластер, который имеет большее сходство с *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum* и *F. campoceras*. Штаммы *Alternaria* sp. 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, скорости 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 нагретого 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 центрифугирование 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' – ggaagtaaaagtctgaacaagg-3' и ITS 4 5' - tcctccgcttattgatatgc-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 I377 (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, разнообразны 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 2000с показала положительный результат высокого содержания в пробе тотальной ДНК.

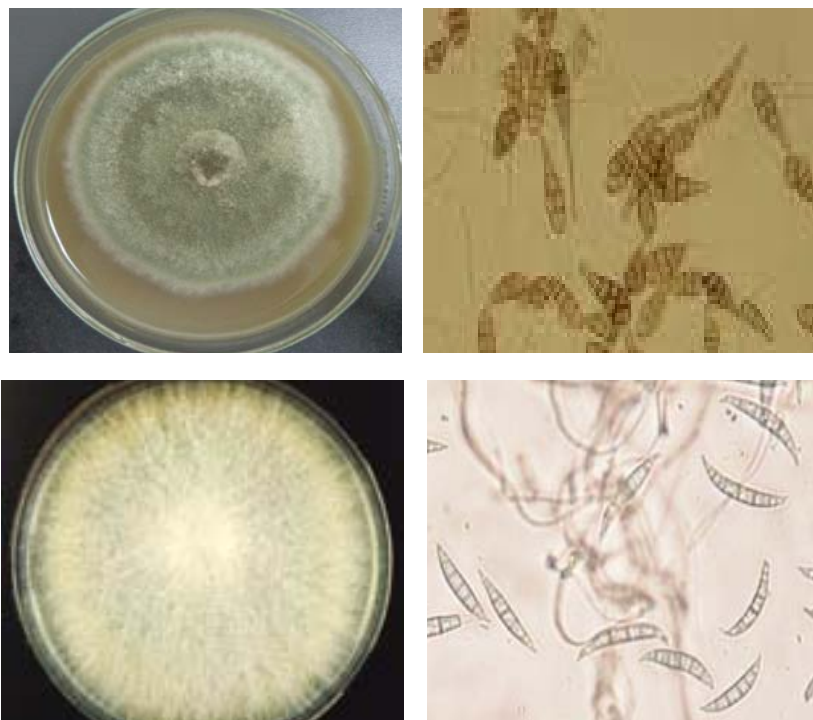


Рисунок 1 – Грибы рода *Fusarium* sp. и *Alternaria* sp., выделенные из пораженных семян сои

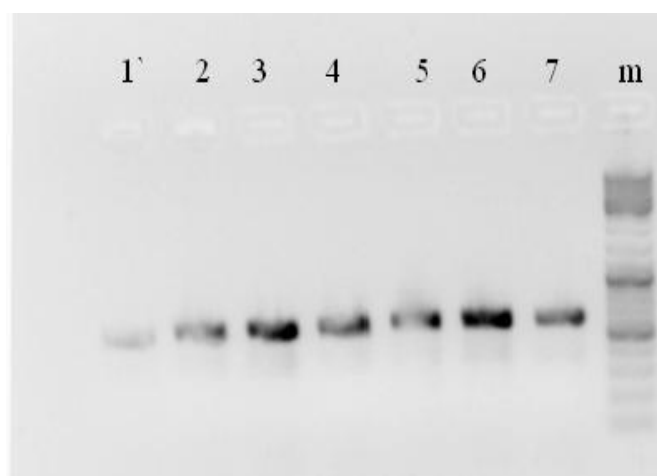


Рисунок 2 – Электрофореграмма ПЦР продуктов амплификации ITS региона:
1–7 образцы, нумерация согласно п/н; (M) маркер молекулярного веса (Fermentas)
(100–10000 п.н., от 100–1000 шаг 100 п.н.)

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. chlamidosporum*, *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum*, *F. arthrosporioides* и *F. torulosum* (рисунок 3, 4).

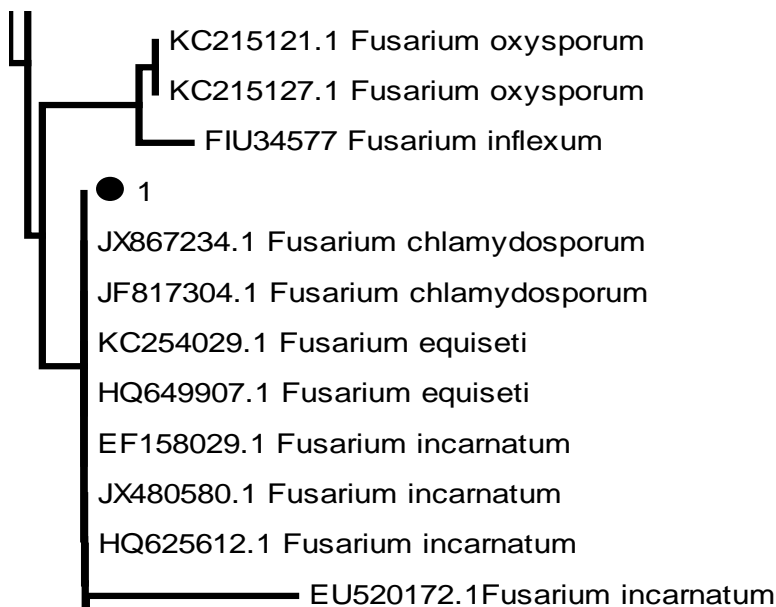


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Fusarium*

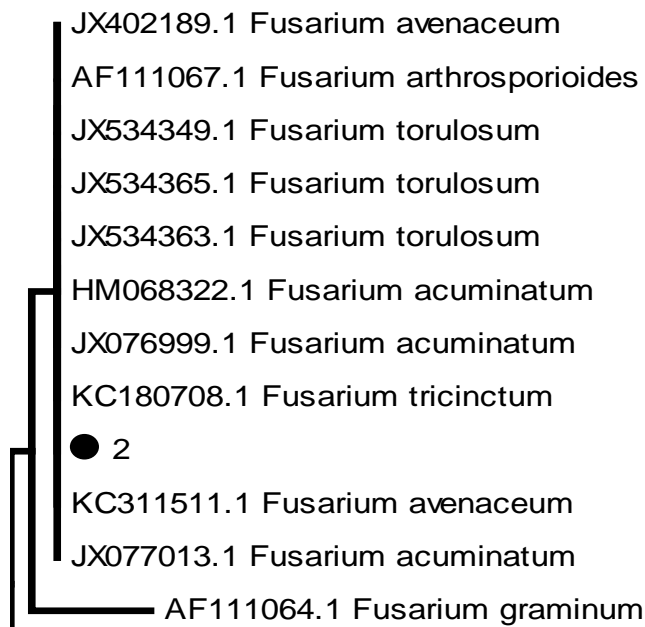


Рисунок 4 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Fusarium*

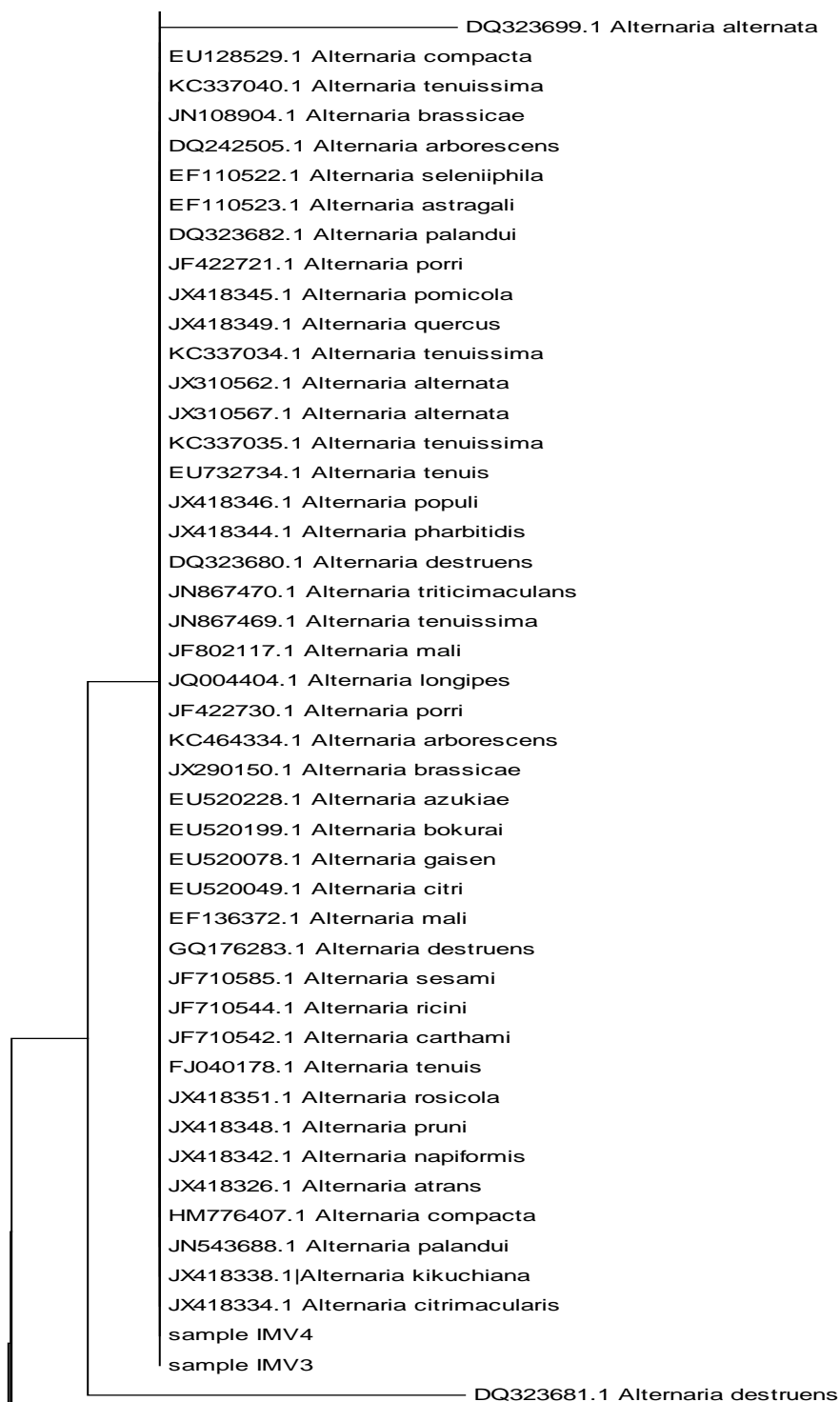


Рисунок 5 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Alternaria*

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 Septoria tritici / Z. Eyal, Z. Amiri, I. Wahl // Phytopathology. 1973. Vol. 63; №9, P. 1087-1091.
- [3] Kulik T. Detection of *Fusarium tricinctum* 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. 407 с.
- [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 toxigenic 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., Paavanan S., Hannukkala A., Parikka P., Tahvonon R., Karjalainen R. Isozyme and RAPD-PCR analyses of *Fusarium avenaceum* 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] Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Московский Университет. 1983. С. 220.
- [16] Емцев В.Т., Мишустин 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] 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 Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press. 1990. N.Y. P. 315-322.
- [19] Ллуэлин М.Б. Определение нуклеотидной последовательности ДНК. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. М.: Мир, 1999. С. 428 - 447.
- [20] Fredlund E., Gidlund A., Olsen M., Börjesson T., Hytte S., Hult 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 *Septoria tritici* / Z. Eyal, Z. Amiri, I. Wahl // Phytopathology. 1973. V. 63; №9, P. 1087-1091.
- [3] Kulik T. Detection of *Fusarium tricinctum* 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] Arefev 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 toxigenic 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., Paavananen S., Hannukkala A., Parikka P., Tahvonon R., Karjalainen R. Isozyme and RAPD-PCR analyses of *Fusarium avenaceum* 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] Llujejin 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., Hytte Sjöliid 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 ӨСЕТІН ҚЫТАЙБҰРШАҚ ӨСІМДІГІН ЗАҚЫМДАЙТЫН ФИТОПАТОГЕНДІ САҢЫРАУҚҰЛАҚТАРДЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ МОЛЕКУЛЯРЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

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

ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

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

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

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

Саңырауқұлақтарды сиквенирлеу нәтижесінде *Fusarium* және *Alternaria* саңырауқұлақтардың түріне жататыны анықталды. Бөлініп алынған саңырауқұлақтардың GenBank мәліметтер базасында нуклеотидтік тізбектерін салыстырғанда 100% ұқсастығын көрсетті. ДНҚ-ның ITS-аумақтарының тізбектерін салыстыру негізделген, филогенетикалық талдауға сәйкес *Fusarium sp.* штамдары жеке кластерге топталды, олар *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. chlamidosporum* және *F. camposeras* саңырауқұлақтарымен ұқсас, сонымен қатар *Alternaria sp.* саңырауқұлақтары *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. compacta*, *A. Porri*-мен ұқсас болды.

Поступила 31.07.2015 г.

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/journal-authors/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 сайте:

[www:nauka-nanrk.kz](http://www.nauka-nanrk.kz)

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

Редактор *М. С. Ахметова*

Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 04.07.2015.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.

10,0 п.л. Тираж 300. Заказ 4.