

Канапин Ч.Б.^{1*}, Утельбаев Е.А.¹, Мусынов К.М.², Тахсин Н.Т.³

¹ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева»,
Акмолинская область, Шортандинский район, Казахстан, china2209@mail.ru*,
utelbaev_erlan@mail.ru

²НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им.
С.Сейфуллина», г.Астана, Казахстан, kazeke1963@mail.ru

³Agricultural University – Plovdiv, Bulgaria, Plovdiv, , ntt@au-plovdiv.bg

ВЫЯВЛЕНИЕ *ALTERNARIA DESTRUENS* НА СОЕ В ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГРИБА

Аннотация

Соя (*Glycine max*) – самая распространённая среди зернобобовых и масличных культур в мире. По классификации ФАО соя относится к масличным культурам, однако она является универсальной культурой благодаря высокому содержанию белков, жира и углеводов. В последнее десятилетие в сельском хозяйстве Казахстана, особенно, в северных зерносеющих регионах большой популярностью пользуется соя. Однако наблюдается отставание по урожайности от крупнейших стран производителей, основные причина – природные условия, использование менее продуктивных сортов, техническое и технологическое отставание. Также, не менее важной причиной, является распространение различных болезней, что часто приводит к снижению урожайности и качества семян сои. В связи с чем, для своевременного, правильного и эффективного проведения мер борьбы глубокое изучение и идентификация возбудителей болезней, в частности грибковых заболеваний, является актуальным. В статье представлены результаты исследований по изучению грибов рода *Alternaria* Spp выделенные из пораженных органов растений сои. Для идентификации штаммов грибов, было использовано метод определения прямой нуклеотидной последовательности ITS региона, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями депонированными в международной базе данных Gene Bank, а также построением филогенетических деревьев с нуклеотидными последовательностями. В результате анализов нами идентифицированы штаммы, относящиеся к *Alternaria destruens*.

Ключевые слова: Соя, болезни сои, *Alternaria destruens*, фитоэкспертиза, идентификация гриба.

Введение

Соя – широко распространенная культура в мире. Основное назначение культуры – это промышленная переработка для получения масла, которое имеет высокую пищевую ценность. Тем не менее по международной технической классификации она относится к масличным культурам, а по биологии это бобовая культура, с высоким содержанием протеина в семенах – 33–44%. Поэтому другое важное направление ее использования – это получение высокопротеинового жмыха и шрота, как для пищевых добавок, так и для обеспечения потребностей животноводства всех направлений [1].

Исторически, соя выращивалась в странах Юго-Восточной Азии (Китай, Япония, Вьетнам, Корея, Индия). Благодаря биологическим особенностям и экологической пластичности стала расширяться далеко за пределы первоначального распространения. В данное время является наиболее распространенной масличной культурой в следующих странах - США, Бразилия, Аргентина, Китай, а в последние годы и Индия входят в пятерку крупнейших производителей этой культуры. В Казахстане основные площади посева сои сосредоточены на юге республики, посевные площади в северных регионах незначительные. Ее становится выгодно производить, так как цена на нее в несколько раз выше, чем на

монокультуру пшеницы, которая занимает в данном зерносеющем регионе около 80% посевных площадей [2,3].

По ежегодным статистическим данным динамика посевных площадей сои неодинакова [4]. Наблюдается резкое снижение и повышение показателя. Это показывает нестабильность производства сои, что указывает на определенные проблемы, трудности и которые требуют решения в технологии выращивания, в улучшении фитосанитарного состояния посевов сои. Одним из фактором препятствующих в получении высокого и качественного урожая сои, является широкое распространение болезней. По результатам исследований Отечественных и зарубежных ученых наиболее распространенными и вредоносными являются такие болезни как Аскохитоз - возбудитель – гриб *Ascochyta sojaecola* Abr., Фузариоз - возбудители – грибы рода *Fusarium* Link et Fr., Переноспороз - возбудитель – гриб *Peronospora mantshurica* (Naut.) Syd. et Gaum, Белая гниль - возбудитель – гриб *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, Альтернариоз - возбудитель – гриб *Alternaria tinuis* Nees, Фомопсис - возбудители – грибы *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, синонимы *Phomopsis sojae* Lehm. и *D. Phaseolorum* var. *sojae*., Семядольный бактериоз - вызывается комплексом бактерий: при повышенной влажности – *Pseudomonas solanacearum* Bergey и *P. Glycinea* Coerper, при засушливой погоде преобладает *Xanthomonas phaseoli* var. *sojense* Starr., Бактериальный ожог - возбудитель – бактерия *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* Coerper., Желтая мозаика - возбудитель- вирус желтой мозаики фасоли *Bean yellow mozaic virus*, Морщинистая мозаика - возбудитель - *Soybean mozaic virus*. [5,6,7,8]. Среди наиболее распространенных заболеваний, как склеротиниоз, корневая гниль, фитофтороз являются наиболее характерными для ведущих производителей сои в Канаде и Китае [9,10]. В свою очередь, фузариозная гниль и корневая гниль, альтернариозная пятнистость листьев, семенная гниль и антракноз чаще упоминаются в соевых регионах Украины, России и Индии [11,12,13].

Нами были проведены полевые исследования с целью оптимизировать фитосанитарное состояние посевов сои в условиях лесостепной зоны Северного Казахстана (Акмолинская область, Сандыктауский район, ТОО «Каменка и Д»). Одной из задач исследований было определение видового состава болезней сои и идентификация возбудителей. По результатам исследований кроме часто встречающихся возбудителей болезней был выявлен гриб *Alternaria destruens* – возбудитель альтернариоза.

Методы и материалы

Материалом для исследований являлись образцы мицелия грибов рода *Alternaria* выделенные из пораженных органов растений сои (стебель). Лабораторные анализы проводились в специализированных лабораториях кафедры Защиты и карантина растений Казахского агротехнического исследовательского университета им С.Сейфуллина, а также в лаборатории Защиты растений ТОО «НПЦЗХ им. А.И. Бараева».

Генетическую идентификацию гриба рода *Alternaria destruens* на основании анализа нуклеотидной последовательности ITS региона проводили в РГП «Национальный центр биотехнологии» Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Идентификация 1 штамма грибов, была осуществлена методом определения прямой нуклеотидной последовательности ITS региона (*межгенного* транскрибируемого региона), с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями депонированными в международной базе данных Gene Bank, а также построением филогенетических деревьев с нуклеотидными последовательностями.

Результаты и обсуждение

При проведении фитоэкспертизы из частей стебля были выделены изоляты гриба *Alternaria*. Выделение и культивирование чистых культур гриба осуществляли на картофельно-глюкозном агаре (КГА). Появившиеся на фрагментах колонии грибов просматривали под микроскопом. Предварительно было идентифицировано один вида *Alternaria: A. Destruens*.

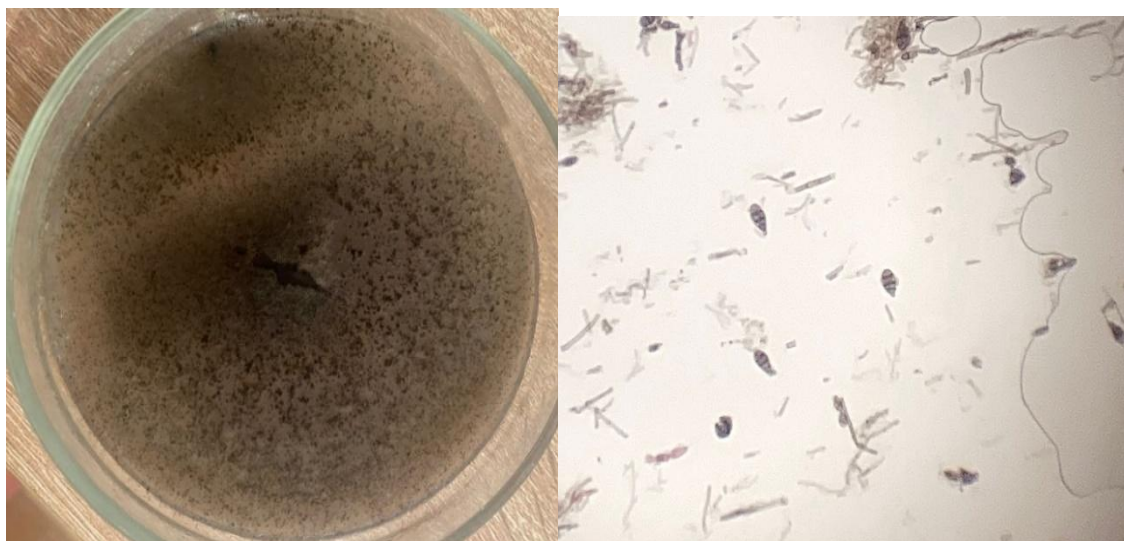


Рисунок 2. *Alternaria destruens* - цвет колоний на КГА и конидии, возникающие на поверхности агар

Выделение ДНК

Для выделения использовали буферный раствор содержащий 100 mM Tris-HCl, pH 8,0, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% СТАВ, протеиназа К 100 µg/ml;

Культуры центрифугировали, удаляли надосадочную жидкость, осадок переносили в стерильные ступки. Добавляли жидкий азот и растирали до порошкового состояния. После чего добавляли 100 мкл полученной суспензии переносили в стерильную 1,5 мл пробирку. После чего добавляли 500 мкл соответствующего буфера. Инкубировали в течение 18 часов. Далее выполняли очистку, фенол/хлороформным методом, с этой целью добавляли 750 мкл хлороформ/изоамилового спирта (24/1), тщательно перемешали и центрифугировали при 12000 об/мин в течение 10 минут. Водную фазу переносили в новую пробирку и повторяли очистку с фенол/хлороформ/изоамиловым спиртом (24/24/1). После центрифугирования водную фазу переносили в новые чистые пробирки и преципитировали ДНК 0,6 объемами изопропилового спирта. Центрифугировали при 12000 об/мин в течение 10 минут, осадок ДНК однократно отмывали 70% этиловым спиртом, с последующим центрифугированием и удалением жидкой фазы. Затем осадок подсушивали на воздухе в течение 15 минут. Образцы ДНК растворяли в 100 мкл однократного ТЕ буфера и хранили при минус 20°C. Измеряли концентрацию ДНК спектрофотометрическим методом с использованием спектрофотометра NanoDrop при длине волны 260 нм (Таблица 1).

Таблица 1. Концентрация ДНК грибов

Sample ID	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
1	74,62	0,232	0,088	2,65	1,39

Амплификация ITS региона

Реакция ПЦР была выполнена с праймерами ITS 5' – ggaagtaaaagtcgtaacaagg-3' и ITS 4' – tcctccgcttattgatatgc -3' в общем объеме 30 мкл. ПЦР смесь содержала 10 нг ДНК, 1Ед. Taq DNA Polymerase (Amplechem), 0,2 mM каждого дНТФ, 10x* NH_4 буфер (Amplechem), 10 пмоль каждого праймера. Программа ПЦР амплификации включала длительную денатурацию 94°C в течение 5 минут; 30 циклов: 95°C – 30 секунд, 52°C- 30 секунд, 72°C – 1мин; заключительная элонгация 7 минут при 72°C, ПЦР программа была выполнена с применением амплификатора DNA Engine Tetrad 2 Cyclor PTC-0240 (Bio-Rad). Результаты ПЦР амплификации приведены на рисунке 3.

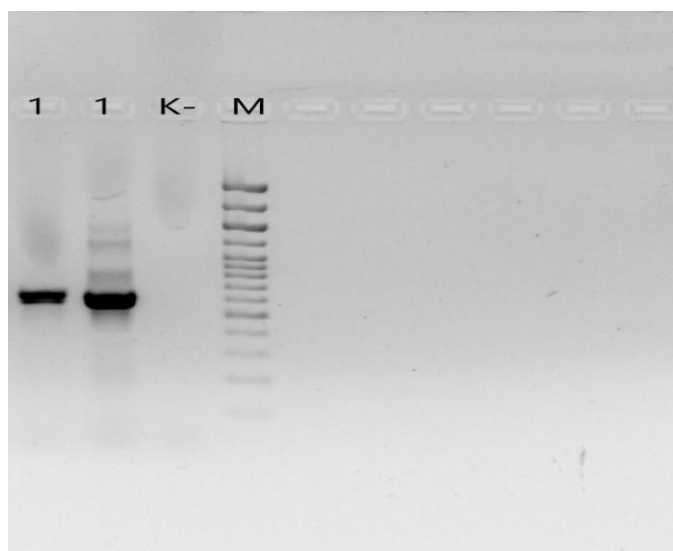


Рисунок 3. Электрофорерограмма ПЦР продуктов амплификации ITS региона. Обозначения: (1) образцы, нумерация согласно п/н; (М) маркер молекулярного веса (Fermentas) (100 – 10000 п.н., от 100-1000 шаг 100 п.н.), (K-) отрицательный контрольный образец; (K+) положительный контрольный образец\

Как видно из рисунка 3 во всех лунках присутствует специфическая полоса, что свидетельствует о наличии ПЦР продукта.

Определение нуклеотидной последовательности

Очистку ПЦР продуктов от не связавшихся праймеров проводили, ферментативным методом используя, Exonuclease I (Fermentas) и щелочную фосфатазу (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas).

Реакцию секвенирование проводили с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems).

Анализ нуклеотидных последовательностей

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 показатель качества). Полученные последовательности были идентифицированы в GeneBank по алгоритму BLAST. Результаты приведены в таблице 2.

Дополнительно были построены филогенетические деревья с последовательностями депонированными в международной базе данных GeneBank. 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).

На рисунке 4 видно, что построение филогенетического дерева с включением родственных видов подтвердило принадлежность штамма к *Alternaria destruens*: исследуемый образец сформировал кладу с данным видом, что указывает на их минимальные генетические различия и тесное эволюционное родство.

Эволюционная история была получена с использованием метода Neighbor-Joining [14]. Дерево нарисовано в масштабе, с длиной ветвей в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для построения филогенетического дерева. В данный анализ было включено 100 нуклеотидных последовательностей. Эволюционный анализ проводился в MEGA11 [15].

Результаты идентификации 1 штамма по ITS региону приведены в таблице 3.

Таблица 2. Результаты идентификации методом анализа нуклеотидной последовательности гена 16S rRNA

Наименование штамма	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инвентарный номер GeneBank (Accession number)	Наименование штамма	% совпадения
1	CAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAAAAGTT GAAAAAAGGCTTAATGGATGCTAGACCTTTGCTGA TAGAGAGTGC GACTTGTGCTGCGCTCCGAAACCACT AGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAG CAAAGCTAGAGACAAGACGCCCAACACCAAGCAAA GCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCC CTTTGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAG ATTCGATGATTCACCTGAATTCTGCAATTCACACTACT TATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAAC CAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAATTT GTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGT TTGTCCTAGTGGTGGGCGAACCACCAAGGAAACAA GAAGTACGCAAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCA AGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCCAGCCCGCCTTCAT ATTTGTGTAATGATCCCTCCGCAGGTTC	<u>NR_137143.1</u>	<u>Alternaria destruens</u>	100%

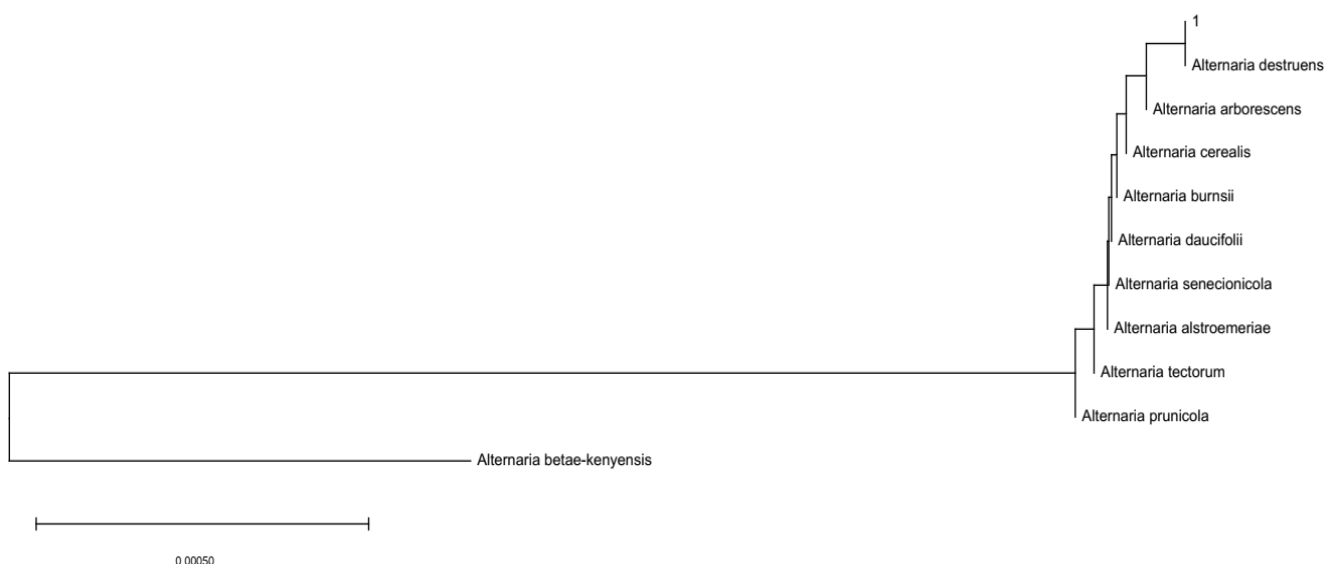


Рисунок 4. Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа фрагмента ITS региона рода *Alternaria*

Таблица 3. Суммарные результаты идентификации штаммов ITS региону

Наименование	Результат идентификации	Примечание
1	<i>Alternaria destruens</i>	Определено на основе филогенетического построенного дерева алгоритмом Neiighbor-Joining (N-J)

В полевых условиях определение болезней, вызываемых грибами, проводят по проявлению признаков и симптомов, а точную идентификацию возбудителя проводят в специализированных лабораториях, главным образом по морфолого-культуральным признакам с применением методов микроскопии и культивирования на питательных средах. Во многих случаях морфологические характеристики спор у близкородственных видов могут совпадать, а внутри одного вида значительно варьировать [16]. Кроме того, симптомы болезни могут проявляться нетипично или заболевание может проходить в скрытой форме [17]. В связи с этим, применение более точных, современных методов является востребованным в диагностике микроорганизмов. В зоне Северного Казахстана *Alternaria destruens* на сое не является основным возбудителем альтернариоза и встречается редко. Так как научных исследований и публикаций где более подробно описывается фитопатогенность данного гриба практический нет. Однако, в исследованиях зарубежных ученых (Ershad D. 2009) данный возбудитель является фитопатогеном для таких культур как баклажан, ячмень и подсолнечник [18]. Также исследованиями ряда ученых Китая (Q.Q. Yang и др.) [19] определено его фитопатогенность на Бирючину китайскую (*Ligustrum sinense*), а учеными Индии (Z. Sultan и др.) на Черногловку обыкновенную (*Prunella vulgaris*) [20]. Следовательно дальнейшее изучение его фитопатогенности на сое и на других полевых культурах является актуальным и требует более глубоких исследований.

Заключение

По результатам фитоэкспертизы из частей стебля были выделены изоляты гриба *Alternaria*. В результате молекулярно-генетического метода типирования идентифицирован штамм 1, относящиеся к *Alternaria destruens*. Результат генетической идентификации могут быть использованы, как молекулярно-биологическая характеристика штаммов.

Благодарность. Особую благодарность выражаем руководству РГП «Национальный центр биотехнологии» МОН РК за разрешение проведения исследований в лаборатории центра. А также директору ТОО «Каменка и Д» Джейранову Алексей Ивановичу за предоставление опытного участка и сельскохозяйственной техники для проведения полевых работ.

Исследования проводились в рамках программы BR22885719 «Разработать и внедрить устойчивые системы земледелия для рентабельного производства сельскохозяйственной продукции в условиях изменяющегося климата для различных почвенно-климатических зон Казахстана»

Список литературы

1. Makulbekova, A., Iskakov, A., Kulkarni, K. P., Song, J. T., & Lee, J. D. (2017). Current status and prospects of soybean production in Kazakhstan. *Plant Breeding and Biotechnology*, 5(2), 55-66.
2. Nurlan Kuldybayev *et al.* // Identification and Pathogenicity of the Soybean Root Rot Pathogen in Arid Conditions. *OnLine Journal of Biological Sciences* 2023, 23 (2): 202.209
3. С.В. Дидоренко, Э.М. Кисетова, Р.Ж. Касенов, Ж.Р. Байжанов, Р.Ж. Кушанова, И. Сагит Продуктивность и качество сортов сои созданных на разных этапах селекционных работ в Казахском научно-исследовательском институте Земледелия и Растениеводства // Ізденістер, нәтижелер – Исследования, результаты. №2 (2-1) 2024.
4. Бюро национальной статистики. Агентство по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан. https://stat.gov.kz/industries/busin_ess-statistics/stat-forrest-

village-hunt-fish/spreadsheets/?year=2014&name=24484&period=&type= Электронный ресурс (дата обращения: 05.07.2024).

5. Nurlan Kuldybayev et al. Identification and Pathogenicity of the Soybean Root Rot Pathogen in Arid Conditions [Text] / OnLine Journal of Biological Sciences. - 2023. - № 23 (2). - P. 202-209.

6. Yorinori, J. T., Paiva, W. M., Frederick, R. D., Costamilan, L. M., Bertagnolli, P. F., Hartman, G. E., & Nunes Jr, J. (2005). Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. *Plant Disease*, 89(6), 675-677. <https://doi.org/10.1094/pd-89-0675>

7. Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Smith, D. L., Sikora E. J., Bradley, C., & Robertson, A. E. Robertson. K. A. (2016). *A Farmer's guide to soybean diseases* (pp. 5-21). D. Mueller (Ed.). St. Paul, MN: *American Phytopathological Society*.

8. [Utelbayev Y.A.](#), [Abysheva G.T.](#), [Bazarbayev B.B.](#), [Mussynov K.M.](#), [Tahsin N.T.](#) Development and spread of diseases in spring camelina (*Camelina sativa* (L.) grantz) when using various treatments // OnLine Journal of Biological Sciences, Volume 21 No. 4, 2021, 288-298.

9. Lerch-Olson, E. R., & Robertson, A. E. (2020). Effect of coinoculations with *Pythium* and *Fusarium* species on seedling disease development of soybean. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 42(3), 408-418.

10. Yang, J., Ye, W., Wang, X., Ren, L., Yao, Y., Wang, X., ... & Wang, Y. (2020). An improved method for the identification of soybean resistance to *Phytophthora sojae* applied to germplasm resources from the Huanghuaihai and Dongbei regions of China. *Plant Disease*, 104(2), 408-413.

11. Mykhalska, L. M., Sanin, O. Y., Schwartz, V. V., Zozulia, O. L., & Hrytsev, O. A. (2019). Distribution of species of *Fusarium* and *Alternaria* genera on cereals in Ukraine. *Biosystems Diversity*, 27(2), 186-191.

12. Kurilova, D. A. (2010). Harmfulness of *Fusarium* species on soybean depending on a degree of plants affection. *Oil Crops*, 2(144-145), 84-89.

13. Nataraj, V., Maranna, S., Kumawat, G., Gupta, S., Rajput, L. S., Kumar, S., ... & Bhatia, V. S. (2020). Genetic inheritance and identification of germplasm sources for anthracnose resistance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67, 1449-1456.

14. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.

15. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

16. А.И. Сейтбатталова, С.Т. Даугалиева, О.Н. Шемшүра, Э.Т. Исмаилова Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика фитопатогенных грибов, поражающих сою в Алматинской области, Известия Национальной академии наук Республики Казахстан, Серия биологическая и медицинская. № 4. 2015 С.: 129-136.

17. 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.

18. Ershad D. (2009) *Fungi of Iran*. Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization, 531 pp. (in Persian).

19. Q.Q. Yang, X.Y. Ma, T.G. Chen, W.X. Liang First Report of *Alternaria destruens* Causing Leaf Spot on *Ligustrum sinense* in China. *Plant Disease* 20 Aug 2019 <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0198-PDN>

20. Z. Sultan M. Y. Bhat A. H. Wani W. S. Malik T. Mushtaq First report of *Alternaria destruens* causing leaf spot disease of *Prunella vulgaris* in India. *New Disease Reports* 2024;49:e12276. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12276>

References

1. Makulbekova, A., Iskakov, A., Kulkarni, K. P., Song, J. T., & Lee, J. D. (2017). Current status and prospects of soybean production in Kazakhstan. *Plant Breeding and Biotechnology*, 5(2), 55-66.

2. Nurlan Kuldybayev et al. // Identification and Pathogenicity of the Soybean Root Rot Pathogen in Arid Conditions. OnLine Journal of Biological Sciences 2023, 23 (2): 202-209
3. S.V. Didorenko, E.M. Kisetova, R.J. Kasenov, J.R. Baijanov, R.J. Kuşanova, İ. Sagit Produktivnost i kachestvo sortov soi sozdannyh na raznyh etapah selektsionnyh rabot v Kazahskom nauchno-issledovatel'skom institute Zemledelia i Rastenievodstva // Izdenister, nätijeler – İssledovania, rezültaty. №2 (2-1) 2024.
4. Бі́ро наtsionalnoi statistikі. Agentstvo po strategicheskomý planirovaniý i reformam Respýblıkı Kazahstan. <https://stat.gov.kz/industries/business-statistics/stat-forrest-village-hunt-fish/spreadsheets/?year=2014&name=24484&period=&type=> Elektronnyı resýrs (data obraeniı: 05.07.2024).
5. Nurlan Kuldybayev et al. Identification and Pathogenicity of the Soybean Root Rot Pathogen in Arid Conditions [Text] / OnLine Journal of Biological Sciences. - 2023. - № 23 (2). - R. 202-209.
6. Yorinori, J. T., Paiva, W. M., Frederick, R. D., Costamilan, L. M., Bertagnolli, P. F., Hartman, G. E., & Nunes Jr, J. (2005). Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003. *Plant Disease*, 89(6), 675-677. <https://doi.org/10.1094/pd-89-0675>
7. Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Smith, D. L., Sikora E. J., Bradley, C., & Robertson, A. E. Robertson. K. A. (2016). A Farmer's guide to soybean diseases (pp. 5-21). D. Mueller (Ed.). St. Paul, MN: American Phytopathological Society.
8. Utelbayev Y.A., Abysheva G.T., Bazarbayev B.B., Mussynov K.M., Tahsin N.T. Development and spread of diseases in spring camelina (*Camelina sativa* (L.) grantz) when using various treatments // OnLine Journal of Biological Sciences, Volume 21 No. 4, 2021, 288-298.
9. Lerch-Olson, E. R., & Robertson, A. E. (2020). Effect of coinoculations with *Pythium* and *Fusarium* species on seedling disease development of soybean. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 42(3), 408-418.
10. Yang, J., Ye, W., Wang, X., Ren, L., Yao, Y., Wang, X., ... & Wang, Y. (2020). An improved method for the identification of soybean resistance to *Phytophthora sojae* applied to germplasm resources from the Huanghuaihai and Dongbei regions of China. *Plant Disease*, 104(2), 408-413.
11. Mykhalska, L. M., Sanin, O. Y., Schwartau, V. V., Zozulia, O. L., & Hrytsev, O. A. (2019). Distribution of species of *Fusarium* and *Alternaria* genera on cereals in Ukraine. *Biosystems Diversity*, 27(2), 186-191.
12. Kurilova, D. A. (2010). Harmfulness of *Fusarium* species on soybean depending on a degree of plants affection. *Oil Crops*, 2(144-145), 84-89.
13. Nataraj, V., Maranna, S., Kumawat, G., Gupta, S., Rajput, L. S., Kumar, S., ... & Bhatia, V. S. (2020). Genetic inheritance and identification of germplasm sources for anthracnose resistance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67, 1449-1456.
14. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
15. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
16. A.I. Seitbattalova, S.T. Daugalieva, O.N. Shemshura, E.T. Ismailova notae geneticae microbiologicae et moleculares phytopathogenici fungi soybeans afficientes in regione Almaty, Bulletin Nationalis Academiae Scientiarum Reipublicae Kazakhstanae, Series Biologica et Medica. No. 4. 2015 P.: 129-136.
17. 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.
18. Ershad D. (2009) Fungi of Iran. Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization, 531 pp. (in Persian).
19. 20. Q.Q. Yang, X.Y. Ma, T.G. Chen, W.X. Liang First Report of *Alternaria destruens* Causing Leaf Spot on *Ligustrum sinense* in China. *Plant Disease* 20 Aug 2019 <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0198-PDN>

20. Z. Sultan M. Y. Bhat A. H. Wani W. S. Malik T. Mushtaq First report of *Alternaria destruens* causing leaf spot disease of *Prunella vulgaris* in India. New Disease Reports 2024;49:e12276. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12276>

Канапин Ч.Б.^{1*}, Утельбаев Е.А.¹, Мұсынов Қ.М.², Тахсин Н.Т.³

¹«А.И. Бараев ат. АШҒӨО» ЖШС Шортанды ауданы, Ақмола облысы, Қазақстан, china2209@mail.ru*, utelbaev_erlan@mail.ru

²«С.Сейфуллин ат. ҚАТЗУ» КЕАҚ Астана қаласы, Қазақстан, kazeke1963@mail.ru

³Пловдив - Аграрлық Университеті, Пловдив қаласы, Болгария, ntt@au-plovdiv.bg

СОЛТҮСТІК ҚАЗАҚСТАННЫҢ ОРМАНДЫ ДАЛАЛЫ АЙМАҒЫНДА СОЯ ДАҚЫЛЫНДА ALTERNARIA DESTRUENS САҢЫРАУҚҰЛАҒЫН АНЫҚТАУ ЖӘНЕ ОНЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Аңдатпа

Соя (*Glycine max*) - дүние жүзіндегі ең көп таралған бұршақ және майлы дақыл. ФАО классификациясы бойынша соя майлы дақылдар қатарына жатады, бірақ ақуыздың, майлардың және көмірсулардың көп болуына байланысты ол әмбебап дақыл болып табылады. Соңғы онжылдықта соя Қазақстанның ауыл шаруашылығында, әсіресе, солтүстік астық өсіруші аймақтарында өте танымал болды. Дегенмен, ең ірі өндіруші елдермен салыстырғанда тұқым өнімділігі бойынша артта қалу байқалады, оның негізгі себептері – табиғи жағдайлар, өнімділігі төмен сорттарды пайдалану, техникалық және технологиялық артта қалу. Сондай-ақ, соя тұқымдарының өнімділігі мен сапасының төмендеуіне әкелетін әртүрлі аурулардың дамуы мен таралуы да маңызды себеп болып табылады. Осыған байланысты, күресу шараларын уақытылы, дұрыс және тиімді жүзеге асыру үшін ауру қоздырғыштарын, атап айтқанда, саңырауқұлақ ауруларын терең зерттеу және анықтау өзекті болып табылады. Мақалада соя дақылының зақымданған мүшелерінен бөлінген *Alternaria Spp* саңырауқұлақтарын зерттеу бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. Саңырауқұлақ штаммдарын анықтау үшін ITS аймағының тікелей нуклеотидтер тізбегін анықтау әдісі қолданылды, содан кейін халықаралық гендік банк дерекқорында сақталған реттіліктермен нуклеотидтердің сәйкестігін анықтау, сондай-ақ нуклеотидтер тізбегі бар филогенетикалық ағаш кескінін салу. Талдаулар нәтижесінде *Alternaria destruens* штаммдары анықталды.

Кілт сөздер: Соя, соя аурулары, *Alternaria destruens*, фитоталдау, саңырауқұлақты идентификациялау.

Ch.B. Kanapin^{1*}, Y.A. Utelbayev¹, Musynov K.M.², Tahsin N.T.³

¹“Scientific and Production Center of Grain Farming named after A.I. Barayev” LLP, Akmola region, Shortandinsky district, Kazakhstan, china2209@mail.ru*, utelbaev_erlan@mail.ru

²NCJSC «S. Seifullin Kazakh Agro Technical Research University» Astana, Kazakhstan, kazeke1963@mail.ru

³Agricultural University – Plovdiv, Bulgaria, Plovdiv, ntt@au-plovdiv.bg

DETECTION OF ALTERNARIA DESTRUENS ON SOYBEAN IN THE FOREST- STEPPE ZONE OF NORTHERN KAZAKHSTAN AND IDENTIFICATION OF THE FUNGUS

Abstract

Soybean (*Glycine max*) is the most common among leguminous and oilseed crops in the world. According to the FAO classification, soybeans belong to oilseed crops, but it is a universal crop due to its high content of proteins, fat and carbohydrates. In the last decade, soybean has become very popular in the agriculture of Kazakhstan, especially in the northern grain-growing regions. However, there is a lag in yield from the largest producing countries, the main reasons are natural conditions, the use of less productive varieties, technical and technological lag. Also, an equally important reason is the spread of various diseases, which often leads to a decrease in the yield and quality of soybean seeds. In this regard, for the timely, correct and effective implementation of control measures, a deep

study and identification of pathogens, in particular fungal diseases, is relevant. The article presents the results of studies on the study of fungi of the genus *Alternaria Spp* isolated from the affected organs of soybean plants. To identify the fungal strains, we used the method of determining the direct nucleotide sequence of the ITS region, followed by determining the nucleotide identity with the sequences deposited in the international Gene Bank database, as well as constructing phylogenetic trees with nucleotide sequences. As a result of the analyses, we identified strains related to *Alternaria destruens*.

Key words: Soybean, soybean diseases, *Alternaria destruens*, phytoexpertise, fungus identification.

МРНТИ 68.37.31

DOI <https://doi.org/10.37884/2-2025/35>

И.И. Темрешев*, Г.Е. Кожабаяева

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж.Жиембаева», Казахстан, temreshev76@mail.ru*, luch.78@mail.ru

САРАНЧОВЫЕ ВРЕДИТЕЛИ (INSECTA, ACRIDIDAE) НА ПОСЕВАХ СОИ В КОСТАНАЙСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ЭНТОМОФАГИ

Аннотация

В агроценозе сои в Костанайской области было выявлено 17 видов саранчовых (Acrididae). Доминировали по численности 3 вида: степной конёк *Euchorthippus pulvinatus* (Fischer von Waldheim, 1846), итальянский прус *Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758) и травянка Фишера *Stenobothrus fischeri* (Eversmann, 1848). По принадлежности к жизненным формам почти все преобладающие по численности виды относятся к факультативным и злаковым хортобионтам, кроме чернополосой кобылки *Oedaleus decorus* (Germer, 1825). Все выявленные и определенные доминанты являются наиболее вредоносными. Индекс общности видового состава Серенсена-Чекановского для саранчовых вредителей в агроценозах посевов сои Алматинской и Костанайской областей был равен 0,59. Этот показатель довольно высокий для столь отдаленных друг от друга и различающихся по климатическим условиям биоценозов. В будущем возможно обнаружение других видов настоящих саранчовых в соевом агроценозе Костанайской области. Всего на посевах сои в Костанайской области было выявлено 24 вида различных энтомофагов саранчовых. Наибольшее значение из всех естественных регуляторов имеет энтомопатогенный гриб *Entomophaga grylli* (Fresenius) A. Batko. В будущем необходимо продолжить начатые исследования по данному направлению.

Ключевые слова: саранчовые, вредители, энтомофаги, соя, видовой состав, Костанайская область

Введение

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – важная культура многостороннего использования. Высокая ценность сои обусловлена тем, что семена её богаты полноценным белком (до 50 %), жиром (до 25 %), углеводами (до 25 %), витаминами (А, В, С, D, Е), и минеральными солями (кальцием, магнием, калием, фосфором). В Казахстане соя выращивается в основном в юго-восточных областях [1]. В Костанайской области соя возделывается ограниченно на малых площадях всего в нескольких хозяйствах. Причина тому – отсутствие современных продуктивных сортов, способных вызревать в условиях области (короткий безморозный период). По состоянию на 2013 г. в области районированы 2 сорта сои, и более 40 сортов находятся в испытании [2, с. 328-330]. В связи с тем, что соя является здесь относительно