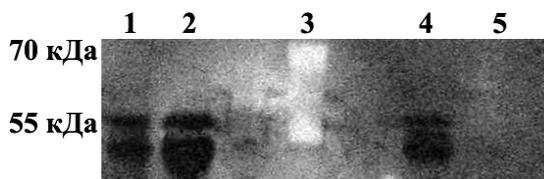


С препаратами белков, осажденных  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , был проведен вестерн-блот анализ с антителами на последовательность His-Tag (рисунок 3). Проведенный анализ выявил наличие белка AtUBP1b во всех фракциях, кроме фракции, осажденной 60%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (дорожка 5, рисунок 3).



1 – препарат объединенных элюатов 1 и 6; 2 – белок, осажденный 25%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ;  
3 – белковый маркер; 4, 5 – белки, осажденные 40% и 60%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  соответственно

**Рисунок 3** – Результаты вестерн-блотинга

По электрофореграмме, представленной на рисунок 2, был проведен денсиметрический анализ (ImageJ 1.42q). Было установлено следующее содержание целевого белка AtUBP1b в препаратах: во фракции белков, неосажденных  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 57.84%, во фракции белка, осажденного 25%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 69.01%, в белковой фракции, осажденной 40%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 29.86%. Таким образом, из 50 мл исходной суспензии бактерий было получено 0.51 мг белка AtUBP1b, причем чистота белкового препарата превышала 50%.

#### Литература

- 1 Kedersha N, Cho M.R., Li W., Yacono P.W., Chen S., Gilks N., Golan D.E., Anderson P. Dynamic shuttling of TIA-1 accompanies the recruitment of mRNA to mammalian stress granules // J Cell Biol. – 2000. – Vol. 151. – P. 1257-1268.
  - 2 Damgaard C.K., Lykke-Andersen J. Translational coregulation of 5'TOP mRNAs by TIA-1 and TIAR // Genes Dev. – 2011. – Vol. 25. – P. 2057-2068.
  - 3 Weber C., Nover L., Fauth M. Plant stress granules and mRNA processing bodies are distinct from heat stress granules // The Plant Journal. – 2008. – Vol. 56. – P. 517-530.
  - 4 Ivanov P., Kedersha N., Anderson P. Stress puts TIA on TOP // GENES & DEVELOPMENT. – 2011. – Vol. 25. – P. 2119-2124.
  - 5 Iadevaia V, Caldarola S, Tino E, Amaldi F, Loreni F.. All translation elongation factors and the e, f, and h subunits of translation initiation factor 3 are encoded by 5'-terminal oligopyrimidine (TOP) mRNAs // RNA. – 2008. – Vol. 14. – P. 1730-1736.
  - 6 Lorkovic, Z.J., Barta, A. Genome analysis: RNA recognition motif (RRM) and K homology (KH) domain RNA-binding proteins from the flowering plant *Arabidopsis thaliana* // Nucleic Acids Res. – 2002. – Vol. 30. – P. 623-635.
  - 7 Vorackova I., Suchanova S., Ulbrich P., Diehl W.E., Ruml T. Purification of proteins containing zinc finger domains using immobilized metal ion affinity chromatography // Protein Expression and Purification. – 2011. – Vol. 79. – P. 88-95.
  - 8 Wingfield P.T. Preparation of soluble proteins from *Escherichia coli* // In: Current protocols in protein science. – 1995. – Vol. 1, New York: Wiley and Sons. – P. 6.2.1-6.2.15.
- Schägger H. Tricine-SDS-PAGE // National Protocols. – 2006. – Vol. 1. – P. 16-22.

УДК632.937 (574.51)

<sup>1</sup>Ш.Б. Смагулова\*, <sup>1</sup>Е.М. Макаров,<sup>1</sup> Е.Ж. Баймагамбетов,<sup>1</sup>С.Б. Аманов,  
<sup>1</sup>А.М. Успанов, <sup>2</sup>М.В. Левченко,<sup>2</sup>Г.Р. Леднев

<sup>1</sup>ТОО «Казахский НИИ защиты и карантина растений», г. Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: [sholpan.smagulov@mail.ru](mailto:sholpan.smagulov@mail.ru)

#### Поиск насекомых с признаками микоза и выделение новых изолятов энтомопатогенных грибов в Южном Казахстане

Из 28 образцов собранных в августе 2013 года было выделено 18 новых изолятов. Установлено, что нововыделенные изоляты относятся к роду *Beauveria*.

**Ключевые слова:** Биопрепарат, микозы насекомых, микромицеты, изолят, гриб.

Sh. Smagulova, E.M. Makarov, E.Zh. Baimagambetov, S.B. Amanov, A.M. Usпанov, M.V. Levshenko, G.R. Lednev  
**Search of insects with symptoms of mycosis and allocation of the entomopatogenykh new isolates of mushrooms in the Southern Kazakhstan**

As a result of route inspections corpses of insects with symptoms of mycosis were collected. 18 new isolates of entomopathogenic fungus are emitted in pure cultures. It was established that 18 isolates belong to the sort *Beauveria bassiana*.

**Keywords:** Biological product, mycoses of insects, micromycetes, isolate, mushroom.

Ш.Б. Смагулова, Е.М. Макаров, Е.Ж. Баймагамбетов, С.Б. Аманов, А.М. Успанов, М.В. Левченко, Г.Р. Леднев  
**Оңтүстік Қазақстандағы энтомопатогенді саңырауқұлақтардың микоз белгілерімен залалданған бунақденелерді іздестіру және жаңа изоляттарын бөліп алу**

2013 жылдың тамыз айында жиналған 28 үлгінің ішінен таза культуруға энтомопатогенді саңырауқұлақтардың 18 жаңа изоляттары бөлініп алынды. 18 изоляттың *Beauveria* туысына жататыны анықталды.

**Түйін сөздер:** биопрепарат, бунақдене микозы, микромицеттер, изолят, саңырауқұлақ.

Одними из наиболее перспективных групп микроорганизмов для управления численностью популяций насекомых являются энтомопатогенные грибы. Обладая определенной специфичностью по отношению к хозяевам, они оказывают значительно меньшее, по сравнению с химическими инсектицидами, воздействие на нецелевые объекты [1]. Гриб *B. bassiana* поражает широкий круг насекомых из различных отрядов. Заражению подвергаются насекомые на всех фазах развития: личинки, куколки, имаго, иногда яйца [2]. Энтомопатогенный гриб *B. bassiana* - типичный космополит, встречается повсеместно, поражает 175 видов насекомых практически из всех отрядов и может сохраняться в природе в отсутствие основного и дополнительного хозяев. Легко выделяется и хорошо культивируется на искусственных питательных средах различного состава, как в поверхностной, так и в глубинной культурах [3].

Энтомопатогенные микроорганизмы могут быть использованы не только для подавления в массе размножившихся вредителей, но и для предупреждения такого размножения [4].

Перспективность грибных препаратов связана и с тем, что грибы могут проникать в тело хозяина практически через любые участки тела: кишечник, трахеи, поровые каналы в кутикуле, склериты, межсегментарные участки. Другие патогены (бактерии, вирусы, простейшие) заражают хозяев только через кишечный тракт [5].

Биоразнообразие энтомопатогенных грибов увеличивает возможность использования их в сельском хозяйстве для контроля численности вредных насекомых. Представители таких анаморфных таксонов, как *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* являются патогенами широкого круга насекомых и паукообразных и, следовательно, потенциальными продуцентами для создания биопрепаратов [4, 5].

Исходя из вышеизложенного, цель наших исследований – поиск и выделение энтомопатогенных микромицетов в районах массового размножения вредных насекомых вредителей сельского хозяйства.

#### **Материалы и методы**

Выделение грибов в культуру проводили по общепринятым методикам, при этом использовали агаризованные питательные среды Чапека и Сабуро.

Для идентификации использовали определители энтомопатогенных грибов [6, 7].

В 2013 году в результате поездок были проведены маршрутные обследования природных станций на юге-востоке Казахстана по поиску новых штаммов энтомопатогенных грибов. Основным местом сбора погибших насекомых была травяная подстилка и в листовном опаде под деревьями. Во время маршрутных обследований, было собрано более 28 экземпляров трупов насекомых с признаками микоза из различных систематических групп.

#### **Результаты и их обсуждение**

Насекомые характеризовались особенностями, указывающими на грибную природу заболевания и их гибели: тело не разлагалось, а твердело, мумифицировалось, практически сохраняя исходную форму; внутри было заполнено мицелием, либо покоящимися спорами гриба. На поверхности насекомых невооруженным глазом был виден мицелий, обычно плотный, мучнистый, пушистый или ватообразный, белого или бежевого цвета (рисунок 1).

Собранные насекомые принадлежат к разным систематическим группам: полужесткокрылые: клоп-щитник, жесткокрылые: жуки, долгоносик, листоеды, тлевая коровка; имаго, гусеницы и куколки бабочек; Из собранного патологического материала методом многократных пересевов получены чистые культуры микроорганизмов, из всего количества собранных образцов выделено 18 изолятов энтомопатогенных грибов. Анализ видового состава изолированных культур показал, что по внешним признакам все грибные изоляты принадлежит к виду *Beauveria bassiana*, семейству *Clavicipitaceae*, отделу *Ascomycota*.

В процессе выделения чистой культуры изолятов исследованы культурально-морфологические особенности при росте на твердых (агаризованных) питательных средах: форма, структура, край колоний, микроскопическая картина, что необходимо для дальнейшей паспортизации культур. Установлено, что все выделенные изоляты достаточно хорошо развиваются на агаризованных питательных средах: Чапека, Сабуро. На агаризованной среде Сабуро основная масса культур имеет морфологию, характерную для *Beauveria* sp.: округлые колонии белого или бежевого цвета, часто с более темной окраской в центре, плотные, мучнистые, мучнисто-пушистые или порошистые.



**Рисунок 1** – Насекомые, пораженные грибом, 2013 г.



**Рисунок 2** – Макроморфология энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*

После выделения все изоляты энтомопатогенного гриба пересеяны на питательную среду Сабуро. Семисуточные культуры на пробирках со скошенной питательной средой помещены в стерильные коробки и заложены на хранение в холодильник при температуре +4° С.

#### Литература

- 1 Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / под ред. В.В. Глупова. - М.: Круглый год, 2001. - 736 с.
- 2 Биологическая защита растений: учеб. пос. для вузов / под ред. М.В. Штерншис. - М.: Колос, 2004. - 264 с.
- 3 Павлюшин В.А. Биологическая защита растений от колорадского жука // Защита и карантин растений. – 2000. - №10. - С. 48-55.
- 4 Крюков В.Ю., Леднев Г.Р., Дубовский И.М., Серебров В.В., Левченко М.В., Ходырев В.П., Сагитов А.О., Глупов В.В. Перспективы применения энтомопатогенных гифомицетов (Deuteromycota, Hyphomycetes) для регуляции численности насекомых // Евразийский энтомологический журнал. - 2007. - № 6 (2). - С. 195-204.
- 5 Гештовт Н. Ю. Энтомопатогенные грибы (биотехнологические аспекты). - Алматы, 2002. - 288 с.
- 6 Леднев Г.Р., Борисов Б.А., Митина Г.В., Возбудители микозов насекомых. Пособие по диагностике. - СПб., 2003. - 344 с.
- 7 Коваль Э.З. Определитель энтомопатогенных грибов СССР. – Киев: Наукова думка, 1974. -260 с.