

Кулманбетова А.С., Доолоткелдиева Т.Д.

**BEAUVERIA BASSIANA ШТАММДАРЫН ТАБИГЫЙ
БУЛАКТАРДАН БӨЛҮП АЛУУ ЖАНА ЭНТОМОПАТОГЕНДИК
КАСИЕТТЕРИН ИЗИЛДӨӨ**

Кулманбетова А.С., Доолоткелдиева Т.Д.

**ВЫДЕЛЕНИЕ АКТИВНЫХ ШТАММОВ
BEAUVERIA BASSIANA ИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ ИСТОЧНИКОВ И
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ**

A.S. Kulmanbetova, T.D. Doolotkeldieva

**ISOLATION OF ACTIVE BEAUVERIA BASSIANA
STRAINS FROM NATURAL SOURCES AND THE DETERMINATION
OF THEIR ENTOMOPATHOGENIC PROPERTIES**

УДК: 582.288:595/632.51

Айыл чарба өсүмдүктөрү ар түрдүү зыяндуу курт-кумурскалардан көп жабыр тартат. Азыркы учурда алар менен күрөшүүдө биологиялык коргоо актуалдуу болуп саналат. Бул максаттарда зыяндуу курт-кумурскаларга карата энтомопатогендик козу карындардын негизинде биопрепараттар өндүрүлөт. Алардын ичинен кеңири таралганы *Beauveria bassiana* – энтомопатогендик козу карыны, ошондой эле алар курт-кумурскалардын “ак мускардин” илдетинин козгоочу катары белгилүү, б.а курт-кумурскалардын мителери болуп саналат. *Beauveria bassiana* энтомопатогендик козу карынын космополиттерге киргизсек болот. Окумуштуулардын айтуусу боюнча бул козу карын курт-кумурскалар бар болгон жердин баардыгында кезеширүүгө болот, бир гана алардын жашоо шарттары үчүн температура жана нымдуулук оптималдуу даражада болушу керек. *Beauveria bassiana* козу карыны СССРде 60 түр курт-кумурсканы жабыркатса, ал эми Түндүк Америкада курт-кумурскалардын 175 түрүн жабыркатууга жөндөмдүү келишет. Бул илимий иште Кыргызстандын жаратылыш шарттарынан *Beauveria bassiana* козу карындары бөлүнүп алынып, алардын биологиялык өзгөчөлүктөрү жана энтомопатогендүүлүк касиеттери изилденди.

Негизги сөздөр: *beauveria bassiana*, ак мускардин, энтомопатоген, козу-карын, биопрепарат, штамм, биологиялык активдүүлүк, зыянкечтер.

Сельскохозяйственные культуры поражаются разными видами вредных насекомых. В настоящее время биологическая защита играет важную роль в борьбе с ними. Против различных видов вредителей производятся биопрепараты на основе энтомопатогенных грибов. Из них широко распространенный энтомопатоген-

ный гриб *Beauveria bassiana*, который известен еще как возбудитель “белой мюскардины”. Энтомопатогенный гриб *Beauveria bassiana* является космополитами. Ученые утверждают, что эти грибы можно встретить везде где могут быть вредители, только в одном условии если температура и влажность оптимальны. Гриб *Beauveria bassiana* поражает более 60 видов насекомых в СССР, а Северном Америке гриб поражает только насекомых более 175 видов. В статье приводятся результаты исследований по биологии и энтомопатогенным свойствам микромицетов *Beauveria bassiana*, которые были выделены из естественных источников Кыргызстана.

Ключевые слова: белая мускардина, энтомопатоген, грибы, биопрепарат, штамм, биологическая активность, вредители.

Crops are affected by various types of harmful insects. Currently, biological protection plays an important role in combating them. Biological preparations based on entomopathogenic fungi are produced against various types of pests. Of these, the widespread entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, which is also known as the causative agent of “white muscardina. Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* is cosmopolitans. Scientists say that these fungi can be found everywhere where there may be pests. Only in one condition if the temperature and humidity is optimal. Fungi *Beauveria bassiana* affects more than 60 species of insects in the USSR, and in North America the affects only insects of more than 175 species. The article presents the results of research on the biology and entomopathogenic properties of micromycetes *Beauveria bassiana*, which were isolated from natural sources of Kyrgyzstan.

Key words: white muscardine, entomopathogen, fungi, biological product, strain, biological activity, pests.

Киришүү.

Beauveria bassiana – энтомопатогендик козу карыны, ошондой эле курт-кумурскалардын “ак мускардин” илдетинин козгогучу катары белгилүү б.а. курт-кумурскалардын паразиттери болуп саналат [1]. Окумуштуулардын айтуусу боюнча бул козу карын курт-кумурскалар бар болгон жердин баардыгында кездештирүүгө болот, бир гана алардын жашоо шарттары үчүн температура жана нымдуулук оптималдуу даражада болушу керек [2]. *Beauveria bassiana* козу карыны СССРде 60 түр курт-кумурсканы жабыркатса, ал эми Түндүк Америкада курт-кумурскалардын 170 түрүн жабыркатууга жөндөмдүү келет [3].

Эң биринчилерден болуп Италиялык окумуштуу Агостино Басси 1835-жылы *Beauveria* түркүмүндөгү *Beauveria bassiana* козу карынын жибек курттардын эжегесаларынан байкаган [4].

*Beauveria bassiana*нын негизги өзгөчөлүктөрү болуп алар курт-кумурскалардын кутикула аркылуу кирип илдет козгойт; курт-кумурскаларды ар кандай онтогенездик стадияларында жабыркатат; спора түрүндө энтомопатогендик активдүүлүгү төмөндөтбөстөн көп убакытта табиятта сакталат; жогорку адистүүлүккө ээ (козу карындын вируленттүүлүгү штаммга жараша болот [5].

1. Материалдар жана методдор. Изилдөөнүн объектиси катары Кыргызстандын Чүй аймагынын жаратылыш булактарынан бөлүнүп алынган *Beauveria bassiana* козу карыны, жабыркаган зыянкечтердин үлгүлөрү.

1.1. Өлгөн курт-кумурскалардан бөлүп алуу ыкмалары: Өлгөн курт жакшылап аккан сууда жуулат. Жуулган куртту кайрадан стерилдүү дистирленген суу менен дагы бир жолу чайкалып, стерилдүү чашкага салынат. Стерилдүү форфор идишине жакшылап эзип, жанчылат. Алынган суспензия суюлтулат. Суюлтуу үчүн дагы 2 пробиркада 9 мл ден стерилдүү суу керектелет. Козу-карындар үчүн оптималдуу суюлтуу 10^2 же 10^3 болуп эсептелет. Даяр суюлтманы стерилдүү Петри чөйчөкчөлөрүнө пипетканын жардамы менен 0.3 мл куюлат да, шпательдин жардамы менен жайылтылат. Термостатта 26°C өстүрүлөт. Козу-карындын орточо өсүү мөөнөтү 4-8 күн.

1.2. Оптималдуу азык чөйрөлөрдү тандап алуу ыкмалары. Козу карын культураларын өстүрүү үчүн үч чөйрө тандалып, алардын кайсынысына жакшы өсөөрү аныкталды.

1.3. Ар кандай температурада кандай өскөндүгүн аныктоо ыкмалары. Лабораториялык штаммдарды чекит менен чөйрөнүн ортосуна отургузуп, 15°C , 4°C , 36°C жана 28°C температураларда өстүрүлүп, өсүү ылдамдыгы ченелди [6].

1.4. *Beauveria bassiana* козу карынынын физиологиялык талаптарына жооп берген арзан азык чөйрөлөрдү тандоо. *Beauveria bassiana* козу карынын лабораториялык шарттарда биомассасын өстүрүп алып, анын энтомопатогендүүлүк активдүүлүгүн аныктоодо козу карындын штаммдарынын физиологиялык талаптарына жооп берген курамдагы арзан азык чөйрөлөрдү тандоо зарыл.

1.5. Биохимиялык мүнөздөмөлөрүн жана ферментативдик активдүүлүгүн изилдөө ыкмалары. Негизинен козу карындардын гифтери курт-кумурскалардын денесине козу карын бөлүп чыгарган ферменттердин жардамы менен кирет. Бул ферменттерди көбүнчө козу карынын споралары өсүп чыгуу мезгилинде бөлүп чыгарат. Бөлүнүп чыккан ферменттердин арасынан эң маанилүүлөрү болуп: амилаза, протеаза, липаза жана хитиназа саналат. *Beauveria bassiana* козу карынынын штаммдары ферменттерди бөлүп чыгарабы же жокпу, аны аныкташ үчүн атайын биохимиялык анализдерди жүргүзүлдү [7].

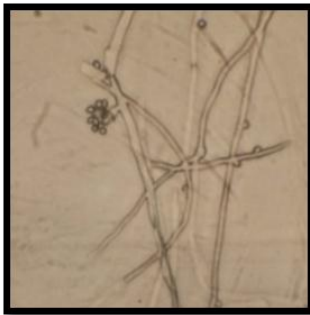
1.6. *Beauveria bassiana* козу карынынын энтомопатогендүүлүк активдүүлүгү. Катуу, арзан азык чөйрөлөрүндө өстүрүлгөн *Beauveria bassiana* штаммдарын колдонуунун негизинде алардын энтомопатогендүүлүк активдүүлүгү аныкталат. В.в. штаммдарынын мицелий кармаган кургак биомассынан жылуу сууда суспензия даярдалып, ар кандай түргө кирген топурак, жалбырак зыянкечтеринин [8] ар кандай стадияларына карата *in vitro* шарттарында сыноолордон жүргүзүлдү.

1. Изилдөөнүн натыйжалары.

Натыйжада Кыргызстандын жаратылыш булактарынан *Beauveria bassiana*нын 7 штаммы (Т-1, 5-gal, 4-зым, 3-зым, 2-col, 1-col, 1-Lepid.) бөлүнүп алынды (1-сүрөт).



а



б

1-сүрөт. *Beauveria bassiana* козу карынын (штамм 2-col) колониясы (а) жана мицелийдин анын микроскоп астынан көрүнүшү (б).

Алар кайсы чөйрөдө жакшы өсөөрүн аныктоо үчүн Чапек, Сабуро, Ачыткыч козу карын чөйрөлөрү тандалды (2-сүрөт).



а

б

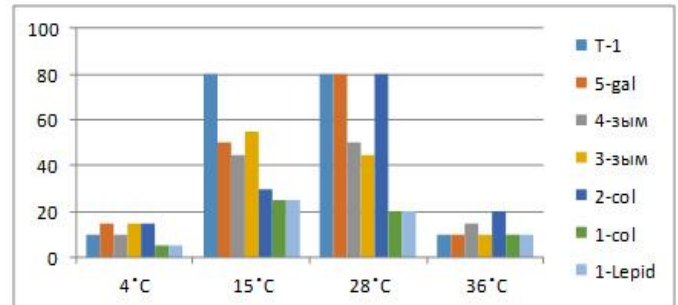


в

2-сүрөт. Чапека (а), Ачыткыч козу карын экстракты (б) жана Сабуро чөйрөсүндө (в) *Beauveria bassiana* штамдарынын өсүшү.

Натыйжада *Beauveria bassiana* козу карыны Чапек чөйрөсүндө жакшы өсүп, өңү ак түстө болуп, көп мицелий пайда кылды.

2.1. Ар кандай температурада кандай өскөндүгүн аныктоонун жыйынтыктары.

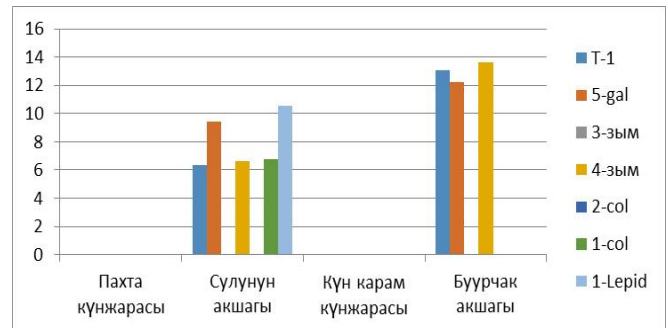


3-сүрөт. 15 °C, 4 °C, 36 °C жана 28 °C температураларда өсүшү.

Кайсы температура козу карын үчүн жагымдуу экендиги аныкталды. Изилдөөдө козу-карын үчүн оптималдуу **15 °C баштап, 2 °C чейинки** температура аралыктары экендиги далилденди (3-сүрөт).

2.2. Beauveria bassiana табыгый штамдарынын физиологиялык талаптарына жооп берген арзан азык чөйрөлөрдү тандоонун натыйжалары.

Beauveria bassiana козу карынын өстүрүүдө төмөнкү өсүмдүк калдыктарын: пахта күнжарасы, сулунун акшагы, күн караманын күнжарасы, буурчактын акшагы колдонулду. Натыйжада Сулунун жана Буурчактын акшагында жакшы өсүшү аныкталды (4-сүрөт).



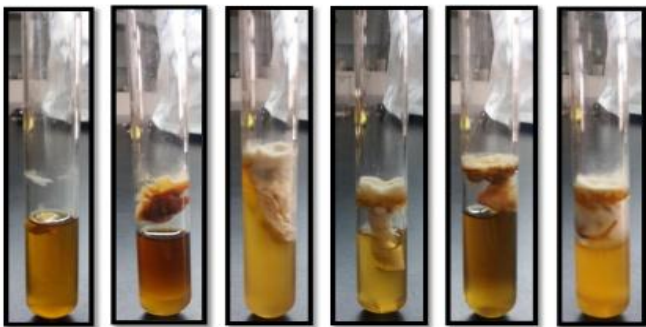
4-сүрөт. Кургак чөйрөдө өстүрүлгөн козу карын биомассасынын чыгышы.

2.3. Биохимиялык мүнөздөмөлөрүн жана ферментативдик активдүүлүгүн изилдөөнүн жыйынтыктары.

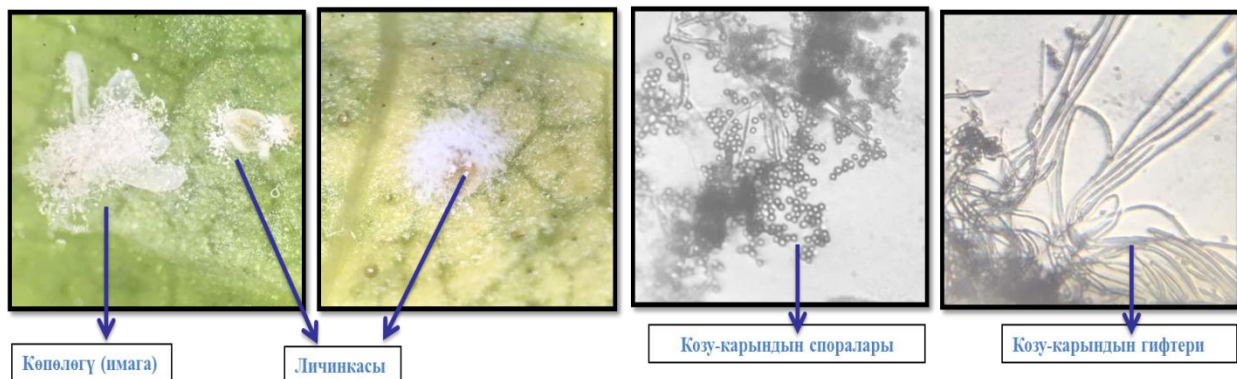
2.3.1. *Beauveria bassiana* штаммдарынын амилolitikкалык активдүүлүгү. Муну аныкташ үчүн атайын биз крахмал кармаган чөйрөнү колдондук. Анткени крахмал амилаза ферментинин жардамы менен гидролизге учурайт.

Штаммдардын арасынан 3-зым жана 1-Lepid штаммдары башкаларга салыштырмалуу жогорку активдүүлүктү көрсөттү. Демек, ар бир эле штамм крахмал-полисахаридди кармаган субстраттарды ажыратуу активдүүлүгүнө ээ эмес экендиги далилденди.

2.4. Протеолиттик активдүүлүгү. Протеазанын активдүүлүгүн субстрат катары желатин, казеин ж.б. белокторду колдонуу менен аныктоого болот (**5-сүрөт**).



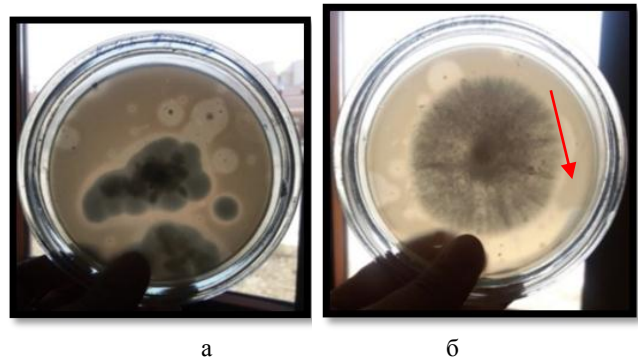
5-сүрөт. Козу карын штаммдарынын желатинди жеп ажыратуусу 1) 4-зым; 2) 3-зым; 3) 1-Lepid.; 4) 5-gal; 5) 1-col; 6) T-1, 45 күндөн кийинки көрүнүшү;



7-сүрөт. Ак канатуулардын 2 жумадан кийин жабыркоосу жана микроскоптун астынан көрүнүшү.

Демек бул штаммдардын протеолиттик таасирлерге ээ болгон ферменттери бар, бирок алар козу карын конидияларынын дозасына жараша, кожоюну жашаган жерлердеги абиотикалык шарттарга жараша активдүүлүктөрүн жай же ылдам көрсөтүшү мүмкүн.

Казеин гидролизи. Протеаза ферменттерин аныктоо үчүн дагы бир анализ – бул казеин гидролизи болуп саналат. Бул атайын сүт-агар чөйрөсүнүн жардамы менен ишке ашырылат (**6-сүрөт**).



6-сүрөт. Казеин гидролизинин көрүнүшү (а, б)

Натыйжада 4-зым, 5-gal, 1-Lepid. T-1 штаммдары протеолиттик активдүүлүккө ээ экендиги көрүндү.

2.4. *Beauveria bassiana* штаммдарынын энтомопатогендүүлүк активдүүлүгү.

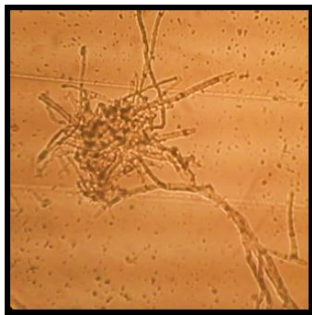
2.4.1. Ак канатуулардын личинкаларына жүргүзүлгөн тажрыйба. Лабораториялык шартта декоративдүү өсүмдүктөрдөн Кытай роза гүлүн жабыркаткан ак канаттарга изилдөө жүргүздүк [9].

In vitro шарттарында изилдөөдө нымдуулук өтө жогорку деңгээлде (85-95%) кармалып турду, демек *Beauveria bassiana* козу-карынынын зыянкечти жабыркатуусу үчүн жогорку нымдуулук талап кылынаары далилденди.

2.4.2. Май коңузунун личинкаларына жүргүзүлгөн тажрыйбанын натыйжалары. Бир идишке 150 гр топурак салынып, ага *Beauveria bassiana* 1-Лер. штаммынын 6-7 гр споралары кошулуп, аралаштырылды жана топуракка май коңузунун 15 личинкасы киргизилди. Жугуштуруудан кийин ар бир жумадан бир личинкалардын абалы текшерилип турду, тактардын пайда болушу 3-4 жумадан кийин, ал эми өлүмү 1 айдан кийин байкалды (8-сүрөт).



а



б

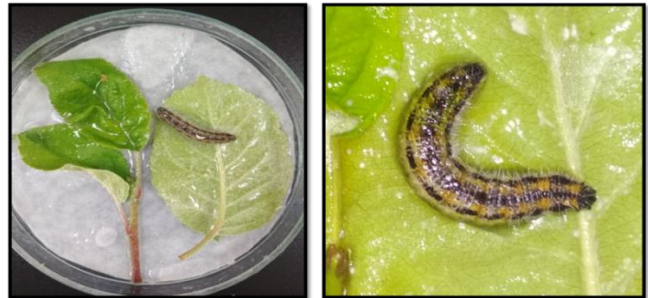
8-сүрөт: Май коңузунун личинкаларынын өлүмгө учуроосу (а) жана өлгөн личинканын гемолимфасынан алынган козу-карын гифтеринин көрүнүшү (б).

2.4.3. *Tuta absoluta* – томат күбөсүнө жүргүзүлгөн тажрыйбанын натыйжасы. Помидор жалбырактарындагы томат күбөсүнүн личинкаларына лабораториялык шартта тажрыйба жүргүзүлдү. Мында личинкалардын өлүмү бир жумадан кийин байкалды (9-сүрөт).



9-сүрөт. Томат күбөсүнүн личинкаларынын ак бубак мицелий менен капталышы жана өлүмгө учуроосу.

2.4.4. Жубайсыз жибек көпөлөгүнө - *Lycantria dispar* каршы жүргүзүлгөн тажрыйбанын жыйынтыгы. Жибексиз жубай көпөлөгүнүн личинкасынын жугуштуруудан кийин 2 жумадан кийин өлүмү байкалды (10-сүрөт).



10-сүрөт. Жибексиз жубай көпөлөгүнүн личинкаларынын ак бубак мицелий менен капталышы жана өлүмгө учуроосу.

Жыйынтыктар. Биз бул ишибизде айыл чарба зыянкечтерине карата биологиялык коргоо үчүн атайын энтомопатогендик козу карын *Beauveria bassiana* изилдедик. *Жалпы 7 штамм изилденди. Beauveria bassiana козу карыны өсүшү үчүн чөйрөлөр тандалып алынып, алардын ичинен Beauveria bassiana козу карыны үчүн Чапека чөйрөсү эң жакшы деп аныкталды. Beauveria bassiana козу карынын өсүшү үчүн оптималдуу оптималдуу температура болуп 15-28 °C тандалды. Beauveria bassiana козу карындын штамдарынан лабораторияда препараттык үлгүлөрүн алуу үчүн физиологиялык талаптарга жооп берген арзан азык чөйрөлөрү тандалып алынды жана алардын ичинен Сулуу менен Буурчактын акшагында биомассанын өсүшү жогорку деңгээлде байкалды. Биохимиялык мүнөздөмөдө жана ферментативдик активдүүлүктү аныктоодо Beauveria bassiana штамдарынан 4-зым, 5-gal, 1-Lepid, T-1 жана 1-col штамдары жогорку активдүүлүктү көрсөттү. Beauveria bassiana козу карынын энтомопатогендүүлүгүн текшерүү үчүн май коңузунун личинкалары, ак канаттууга, жибексиз жубай көпөлөгүнө, томат күбөсүнө каршы лабораториялык шарттарда тажрыйбалар жүргүзүлдү. Жүргүзүлгөн тажрыйбалардын негизинде Beauveria bassiana козу карынынын жабыркатуусу үчүн белгилүү гана нымдуулукта жана температурада жүргөнү далилденди.*

Адабияттар:

1. Евлахова А.А. Энтомопатогенные несовершенные грибы. - Ленинград: Изд-во «Наука», 1974. <http://plantlife.ru/books/item/f00/s00/z0000026/st072.shtml>
2. Биофайл энтомопатогенные грибы. <http://biofile.ru/bio/1052.html>.
3. Рефераты по ботанике и сельскому хозяйству. Биотехнология на страже урожая <https://xreferat.com/13/1705-2-biotehnologiya-na-strazhe-urozhaya.html>
4. Studies on the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: molecular and immunological characterization of allergens, by Greg S. Westwood, A dissertation presented to the graduate school of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy. University of Florida, 2006.
5. Forum-flower.ru *Beauveria bassiana*-грибок паразит насекомых <http://forum-flower.ru/showthread.php?t=2572>
6. Изменение температурных предпочтений изолятов *Beauveria bassiana* в широтном градиенте Сибири Казахстана 2012. В. Ю. Крюков, О.Н. Ярославцева, Е.А. Елисафенко, П.В. Митьковец, Г.Р. Леднев, Б.А. Дуйсембеков, С.М. Закиян, В.В. Глухов.
7. Руководство практическим занятиям по микробиологии. / Н.С. Егорова. - 2-е издание, 1983.
8. Токторалиев Б.А. Основные вредители вязовых деревьев в условиях города Бишкек. / Республиканский научно-теоретический журнал «Известия вузов Кыргызстана», №1. - Бишкек, 2018. - С. 39-42.
9. Tütün beyazsineği [*Bemisia tabaci* Gennadius, 1936 (Homoptera: Aleyrodidae)] ile biyolojik mücadelede *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1826 (Hyphomycetes: Deuteromycotina) izolatlarının potansiyellerinin belirlenmesi, Engin KILIÇ, Doktora Tezi, 2006.

Рецензент: к.биол.н. Конурбаева М.У.