

- Осмонбаева и др. // Водные и гидроэнергетические ресурсы Кыргызстана в условиях изменения климата. - Б.: 2022.- Гл. 1. - С. 7-49.
16. Шардаков В.С. Реакция на пероксидазу как показатель жизнеспособности пыльцы растений [Текст] / В. С. Шардаков // Доклады АН СССР. – 1940. - Т. 26. Вып. 3. - 77 с.
17. Naeth A., Soil reclamation and remediation of disturbed lands\ [Text] / M. Rutherford, A. Jobson // URL: <https://openpress.usask.ca/soilscience/chapter/soil-reclamation-and-remediation-of-disturbed-lands/>
- 

УДК 579.842.1/.2

Сариева Гульмира Едигеевна, к.б.н., доцент,  
зав. кафедрой естественных наук,  
Иссык-Кульский государственный университет  
им. К. Тыныстанова,  
Ибраева Назгуль Ильязовна, к.б.н., доцент,  
зав. кафедрой естественно-научного образования и  
физического воспитания,  
Нарынский государственный университет им. С.  
Нааматова,  
Эралиева Асел Мукамбетовна. и.о. директора  
Нарынской опытной станции,  
Арзыбек уулу Мунарбек, зав. филиала НИИ  
Ботанический сад им Э. Гареева НАН КР в г. Нарын  
E-mail: sarieva.g@iksu.kg

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ-ЭПИФИТОВ И ПАТОГЕНОВ ПЛОДОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СЕВЕРНОГО КЫРГЫЗСТАНА**

*Плодовые культуры Северного Кыргызстана имеют очень широкое разнообразие сортов и форм, в том числе наилучшим образом акклиматизированных к местным почвенно-климатическим условиям. Однако в последние 20-30 лет в регионе происходит повсеместное поражение яблони и груши бактериальными и грибковыми болезнями, такими как мучнистая роса, парша, бактериальный ожог. Идентификация бактерий-возбудителей бактериального ожога имеет определенные сложности, так как более простые и доступные бактериологические методы часто не позволяют точно идентифицировать вид возбудителя. Показанные в данной работе методы молекулярно-генетического подтверждения вида (ПЦР, секвенирование) позволяют быстро и точно определить вид бактерий и дополняют классические микробиологические методы. Так, среди 21 штаммов бактерий, предположительно *Erwinia amylovora* был выделен близкородственный к нему вид *Pantoea agglomerans*, который является не патогеном, а эпифитной бактерией, способной защитить растение от вредного влияния патогена. Роль данного вида в защите или поражении плодовых деревьев в Северном Кыргызстане требует дальнейшего изучения.*

*Ключевые слова. Болезни плодовых деревьев, патоген, эпифит, ПЦР, штамм, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*.*

Сариева Гульмира Едигеевна, б.и.к., доцент,  
табигый илимдер кафедрасынын башчысы,

К. Тыныстанов атын. Ыссык-Көл мамлекеттик университети,  
Ибраева Назгуль Ильязовна, б.и.к., доцент,  
табигый илимдер жана дене тарбия кафедрасынын башчысы, С. Нааматов атын. Нарын мамлекеттик университети,  
Эралиева Асел Мукамбетовна, Нарын айыл-чарба эксперименталдык станциянын директордун м.а.  
Арзыбек уулу Мунарбек, Э.Гареев атын. Ботаникалык багынын филиалдын башчысы, Нарын ш.

## **ТҮНДҮК КЫРГЫЗСТАНДАГЫ МӨМӨ ДАРАКТАРЫНЫН ЭПИФИТ ЖАНА ПАТОГЕН БАКТЕРИЯЛАРЫН АНЫКТОО**

*Түндүк Кыргызстандын мөмө-жемиш өсүмдүктөрүнүн сорттору жана формалары өтө ар түрдүү, анын ичинде жергиликтүү топурак-климаттык шарттарга эң жакшы көнүшкөн. Бирок, акыркы 20-30 жылда бул аймакта алма жана алмурут бак-дарактарына ак дат, котур, өрт оорусу сыяктуу бактериялык жана козу карын илдеттери кеңири тараган. Өрттүн күйүүсүн пайда кылган бактерияларды аныктоодо белгилүү бир кыйынчылыктар бар, анткени жөнөкөй жана жеткиликтүү бактериологиялык ыкмалар көбүнчө патогендин түрүн так аныктоого мүмкүндүк бербейт. Бул эмгекте көрсөтүлгөн түрлөрдүн молекулалык-генетикалык ырастоо ыкмалары (полимераздык тизмек реакциясы - ПТР, секвенирлөө) бактериянын түрүн тез жана так аныктоого жана классикалык микробиологиялык ыкмаларды толуктоого мүмкүндүк берет. Ошентип, бактериялардын 21 штаммынын ичинен, болжолдуу түрдө *Erwinia amylovora*, жакын түрдөгү *Pantoea agglomerans* бөлүнүп алынган, ал патоген эмес, өсүмдүктү патогендин зыяндуу таасиринен коргой турган эпифиттик бактерия. Бул түрдүн Түндүк Кыргызстандын жемиш бактарын коргоо же зыянга учуратуудагы ролу андан ары изилдөөнү талап кылат.*

*Негизги сөздөр: Мөмө-жемиш өсүмдүктөрүнүн илдеттери, патоген, эпифит, ПТР, штамм, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*.*

Sariyeva Gulmira Edigeevna, candidate biological sciences, associate professor, Department of natural sciences, Issyk-Kul state university named after K. Tynystanov,  
Ibrayeva Nasgul Pyasovna, candidate biological sciences, associate professor, department of natural scientific and physical education, Naryn State University named after S. Naamatov,  
Eralieva Asel Mukambetovna, acting director of the Naryn experimental station,  
Arzybek u. Munarbek, Head of the branch Botanical Garden named after E. Gareev of the National Academy of Sciences of Kyrgyzstan, Naryn city  
E-mail: sarieva.g@iksu.kg

## **IDENTIFICATION OF EPIPHYTE AND PATHOGEN BACTERIA OF FRUIT TREES IN NORTHERN KYRGYZSTAN**

*Fruit trees of Northern Kyrgyzstan have a very large variety of cultivars and forms, including those best acclimatized to local soil and climatic conditions. However, in the last 20-30 years in the region we see widespread damage to apple and pear trees by bacterial and fungal diseases, such as powdery mildew, scab, and fire blight. Identification of bacteria that cause fire blight has certain difficulties, since simpler and more accessible bacteriological methods often do not allow accurately identifying the specie of pathogen. The methods of molecular genetic confirmation of the species shown in this work (PCR, sequencing) allow you to quickly and accurately determine the type of bacteria and complement classical microbiological methods. Thus, among 21 strains of bacteria, presumably *Erwinia amylovora*, a closely related species, *Pantoea agglomerans*, was isolated, which is not a pathogen, but an epiphytic bacterium that can protect the plant from the harmful effects of the pathogen. The role of this species in protecting or damaging fruit trees in Northern Kyrgyzstan requires further study.*

*Fruit trees diseases, pathogen, epiphyte, PCR, strain, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*.*

**Введение.** Северный Кыргызстан, благодаря благоприятным почвенным и климатическим ресурсам, имеет исторически сложившееся большое разнообразие сельскохозяйственных культур [1]. Особенно широко представлены здесь яблоня, груша и абрикос, многие сорта которых, выведенные в Кыргызстане и отлично акклиматизированные к местным почвенно-климатическим условиям, составляют важнейший генетический ресурс, «Золотой фонд», основной фактор продовольственной безопасности в регионе. Однако в условиях перехода к рыночной экономике местные традиционные сорта плодовых культур (Таш-алма, Чаар-алма, Суу-алма, Иссык-Кульский апорт) по тем или иным причинам заменяются на привозные сорта или сорта кыргызской селекции, но имеющие коммерческие преимущества (Превосходное, Голден Делишес, Кыргызское Зимнее, Ренет Семиренко). Кроме того, бывшие массивные производственные фруктовые сады перешли в частные руки и массово поражаются различными фитопатогенами, природа и механизм действия которых остается малоизвестными. Одним из самых опасных патогенов яблони и груши является *Erwinia amylovora*, возбудитель карантинной болезни «Бактериальный ожог». Данное поражение повсеместно распространено в Кыргызстане, начиная с 2000-х гг. и нанесло огромный ущерб в секторе плодоводства, так как привело к вырубке и гибели почти 90% грушевых садов в Кыргызстане [2]. В этой связи целью данной работы было исследовать разнообразие видов бактерий семейства Enterobacteriaceae – патогенов, эпифитов и эндофитов сельскохозяйственных культур, распространенных в Северном Кыргызстане.

**Материалы и методы.** Побеги груши и яблони с симптомами некротического поражения, увядания и усыхания отбирали с 2017 по 2021 гг. в частных садах Ак-Суйского и Жеты-Огузского районов Иссык-Кульской области, а также в Филиале Ботанического сада им. Э. Гареева в г. Нарын. Всего было исследовано двадцать один штамм бактерий. Все штаммы выделяли из растительного материала по методу, описанному Khan [3], выращивали и поддерживали на чашках со средой Кинг Б или Левана при 28°C. ДНК выделяли набором Рибопреп (Интерлабсервис, Россия). Выделенные ДНК были проверены на чистоту и концентрацию с помощью прибора Nanodrop 2000. Молекулярно-генетическое определение вида бактерий проводили в молекулярно-генетической лаборатории ИГУ им. К. Тыныстанова и лаборатории микробиологии Университета Дармштадт (Германия). ПЦР, нацеленную на ген 16S рДНК, проводили в общем объеме 49 мкл с использованием 0,25 мкл праймеров (fD1/rP2) с ожидаемым размером ампликона 1,5 КБ в конечной концентрации 100uM. Условия амплификации включали начальную денатурацию и активацию фермента

GoTaq G2 polymerase (Promega) в течение 2 мин при 95 °С, затем 35 циклов денатурации при 95 °С в течение 45 с, отжиг при 55 °С в течение 45 с и 2 мин элонгации при 72 °С, заканчивая окончательной элонгацией в течение 5 мин при 72 °С. Положительную амплификацию и размер полученных ПЦР-ампликонов проверяли путем нанесения 5 мкл каждой реакции на 1 % агарозный гель в 1x TAE буфере, содержащем 5μl/100ml Roti Gelstain после электрофореза при 120V в течение 30-45 минут. Ампликоны 16S рРНК изолированных штаммов были очищены с помощью набора Qiaquick Kit (Qiaquick, Hilden, Germany) и секвенированы с использованием тех же праймеров fD1 и rP1/rP2. Филогенетическое дерево исследуемых штаммов было построено на основе фрагментов ампликонов длиной 489 п.н. Сайты, имеющие пробелы в выравнивании, были исключены из анализа. Для расчета эволюционных расстояний и построения дерева на основе метода минимальной эволюции с моделью максимального сложного правдоподобия была использована программа Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA), версия 6.0 [4]. Узловая устойчивость дерева оценивалась с помощью 1000 бутстрэп-повторностей.

**Результаты.** Из образцов пораженных деревьев яблони и груши Иссык-Кульской и Нарынской области выделено более 20 штаммов предположительно *Erwinia amylovora*. Принадлежность к семейству *Enterobacteriaceae* было подтверждено культуральным тестом - ростом на полуидентификационных средах Кинга Б и Левановой (рис. 1,2). По морфологии большинство культур совпадает с описанием *Erwinia amylovora* по литературным данным: на левановой среде колонии белые, круглые, с плоским краем, зернистые (рис. 2). На среде Кинга Б – белые, круглые, куполообразные (рис.1). Такие фенотипические признаки соответствуют описанным в литературе [5]. На обеих средах были желтые колонии (№2, 3, 6, 9, 13, 17, 19, 21).

Для подтверждения вида мы провели биохимические исследования, которые показали, что белые культуры больше соответствуют *E. amylovora* (таб. 1), так как гидролизуют сахарозу, маннит, маннозу.

Таблица 1.

Биохимический ряд культур бактерий, выделенных из побегов плодовых деревьев

Штамм	Полиуглеводная среда	Сахароза	Маннит	Манноза	Хью
№5 (груша, Нарын, белая)	+	+	+	+	+
№6 (груша, Нарын, желтая)	-	+	+/-	-	+
№4 (груша, с. Маман, белая)	-/+	+	+	+	-



Рис.1. Культура выделенного штамма на среде КингБ

Желтая культура №6 в отличие от белых культур разлагала полиуглеводную среду и маннит позже.

Результаты ПЦР 16s рРНК показаны на рисунке 2. ПЦР гена, кодирующего 16S рРНК, показал отчетливые положительные ампликоны у всех исследуемых штаммов (рис. 3). Секвенирование ампликонов 16S рРНК штамма 3 показало 100% сходство с

полным хромосомным геном эталонного штамма *Pantoea agglomerans* DY1 (GenBank FN666575).

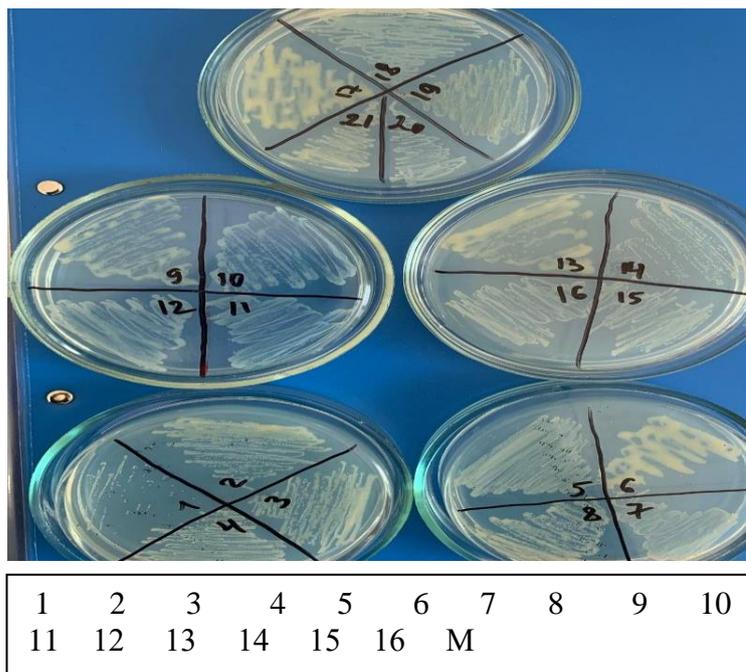


Рис.2. Культуры выделенных бактерий на Левановой среде

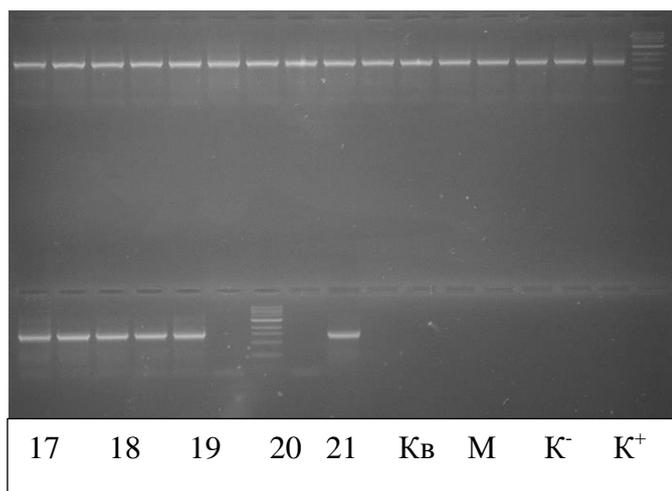


Рис. 3. Результаты ПЦР штаммов бактерий на 16S рРНК. Примечание: 1-21 – штаммы бактерий, М – молекулярный маркер, Кв – контроль выделения ДНК, К<sup>-</sup> - отрицательный контроль ПЦР, К<sup>+</sup> - положительный контроль – *Erwinia oleae*

**Обсуждение.** Диагностику бактериального ожога, как и всех бактериальных инфекций, рекомендуют проводить комплексно классическими бактериологическими и современными молекулярно-генетическими методами [3]. Наши результаты показали, что недостаточно полагаться только на культуральные бактериологические методы. Они не позволяют точно определить вид патогенов только по фенотипическим признакам представителей такого обширного семейства как *Enterobacteriaceae*.

Только проведя ПЦР на 16S рРНК и секвенирование полученных положительных ампликонов, мы смогли определить вид большинства штаммов. Результаты секвенирования фрагментов гена 16S рРНК позволили идентифицировать вид штамма №3 с точностью от 99,25% до 100%. В результате мы констатируем, что в Северном Кыргызстане на яблонях и грушах распространен следующий эпифитный

представитель семейства *Enterobacteriaceae*: *Pantoea agglomerans* из рода *Pantoea*. Известно, что *P. agglomerans* — эпифитная бактерия, обитающая в экосистеме сада или филлосфере растений [6]. Будучи близким родственником *E. amylovora*, *P. agglomerans* проявляет антагонистические свойства против неё же за счет конкурентного исключения и продукции противомикробных препаратов [7]. В связи с антагонистическими к патогенам свойствами интерес ученых всего мира к представителям рода *Pantoea* очень возрос, в результате за последние несколько лет количество описанных видов рода *Pantoea* значительно расширилось. Род *Pantoea* тесно связан с родами *Tatumella* и *Erwinia* [8], все трое образуют монофилетическую группу, вложенную друг в друга, в пределах других родов семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Cronobacter* [6]. Штаммы рода *Pantoea* были выделены из ряда источников, но в основном из множества растений. Такой факт дает возможность предположить, что выделенный нами штамм *P. agglomerans* является не патогеном для яблони и груши, а, возможно, симбионтом, который способен усилить иммунную реакцию растений по отношению к болезнетворным микроорганизмам, снижая численность населения вредных микробов [9]. Роль данного вида эпифитной бактерии в повреждении плодовых культур бактериальным ожогом требует дальнейшего изучения.

**Заключение.** Впервые в Северном Кыргызстане на побегах плодовых деревьев (яблони и груши) нами был обнаружен вид эпифитной бактерии *Pantoea agglomerans*. Этот вид активно изучается в последнее время в связи с хорошими противопатогенными к бактериальным болезням свойствами, а также способностью улучшать качественный состав почвы. Вид был подтвержден классическими микробиологическими и биохимическими методами, но основная идентификация была проведена с помощью современных молекулярно-генетических методов – ПЦР и секвенирование гена 16s рРНК.

**Благодарность.** Авторы выражают большую благодарность Д-ру Андреасу Леклерку, заведующему лаборатории микробиологии и патологии Университета Дармштадта за помощь в проведении молекулярно-генетических работ.

**Финансирование.** Основные результаты были получены в ходе выполнения национального и международного проектов: МОН КР №68 «Разработка и тестирование биопрепарата для лечения бактериального ожога плодовых культур Кыргызстана» (2022-2023); Евразийская стипендия фонда DAAD (57695565) «Молекулярно-генетическая идентификация штаммов бактериальных возбудителей болезней плодовых культур в Иссык-Кульской области Кыргызстана» (июль-август 2023).

#### Литература:

1. Солдатов И.В. Реестр местных сортов плодовых, орехоплодных и ягодных культур, выращиваемых in situ/on farm в Кыргызстане. [Эл. ресурс], 2012, Бишкек, 2012.
2. Чакаев. Дж.Ш. Ожог плодовых деревьев в Кыргызстане [Текст] / Чакаев Дж.Ш. // Кыргызпатенттин кабарлары: интеллектуалдык менчик жана инновациялар меселелери. №2. – Бишкек, 2013. - С. 5-8.
3. Diagnostics PM 7/20 (2)\* *Erwinia amylovora* [ ] / Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2013, 43 (1), С. 21–45
4. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. [Текст] / Tamura K., Nei M. // Molecular Biology and Evolution. №10. – 1993. – С. 512–526.
5. Stockwell V.O., Hockett K., Marie C., Duffy B., Pink *Erwinia amylovora*: colony discoloration in diagnostic isolations by co-cultured bacteria. [Текст] / Acta Horticulturae. -№793. - 2008. – С. 539-542.
6. Walterson A.M., Stavrinides, J. [Текст] / FEMS Microbiology Reviews // №39. – 2015. – С. 968–984.

7. Johnson K.B., Stockwell V.O., Sawyer T.L., et al. Assessment of environmental factors influencing growth and spread of *Pantoea agglomerans* on and among blossoms of pear and apple. [Текст] / *Phytopathology* 2000;90:1285–94.
  8. Brady C, Cleenwerck I, Venter S, et al. Phylogeny and identification of *Pantoea* species associated with plants, humans and the natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA). *Syst Appl Microbiol* 2008;31:447–60.
  9. Приходько С.И., Селицкая О.В. Исследование качественного состава эпифитных микроорганизмов некоторых культурных и сорных растений Тамбовской и Московской областей. [Текст] / *Агрехимический вестник* // № 3 – 2014, С. 12-15.
- 

УДК.632.15

Жакыпбекова Атыргул Талиповна, улук окутуучу,  
Ош мамлекеттик университети,  
Туманбаев Бекболсун Мырзабекович,  
КР Саламаттык сактоо министрлигинин оорулардын  
алдын алуу жана мамлекеттик санитардык-  
эпидемиологиялык көзөмөл департаментинин  
радиациялык коопсуздук бөлүмүнүн радиациялык  
гигиенасынын врачы,  
Кулчинова Гулшайыр Абдурахмановна, окутуучу,  
Ош мамлекеттик университети,  
Козубалаева Айбала Мырзабековна, Жайыл баатыр  
атын.№12- орто мектебинин биология мугалими,  
Бишкек ш., Кыргыз республикасы  
E-mail: beka93\_kg@mail.ru, kgulya1975@gmail.com,

### **ТҮТҮН, ТАШТАНДЫ ЖАНА УУЛУУ КАЛДЫКТАР: КЫРГЫЗСТАНДЫН ЭКОЛОГИЯСЫНДАГЫ КОРКУНУЧТУУ ЖАГДАЙЛАР**

*Биздин Кыргызстандын аймагында дүйнөдөгү флоранын 2% га жакыны өсөт жана фауна түрлөрүнүн 3% дан ашыгы жашайт. Өлкөдө таза суунун жана мөңгүлөрдүн эбегейсиз запастары бар. Бирок тилекке каршы, ушундай атаандаштык артыкчылыктар болгон менен Кыргызстанда экологиялык маселе жана курчап турган чөйрөнү коргоо боюнча абал барган сайын начарлап баратат. Кыргызстан экологиялык эффективдүүлүк индекси (ЕРИ) боюнча экологиялык абалы жана экосистемалардын жашоого жөндөмдүүлүгү 180 өлкөнүн ичинен 99-орунда турат. Анын ичинде абанын сапаты - 132-орунда, суунун булгануу деңгээли жана санитардык абал боюнча - 104-орунда, биологиялык ар түрдүүлүк боюнча - 97-орунда. Бул Кыргызстандын экологиясы үчүн коркунучтуу жагдай болуп эсептелет.*

*Негизги сөздөр: флора, фауна, мөңгү, экологиялык эффективдүүлүк индекс, абанын сапаты, суунун булгануу деңгээли, биологиялык ар түрдүүлүк, түтүн, ыш, уулуу калдык сактагычтар, радиация.*

Жакыпбекова Атыргул Талиповна, ст. преподаватель,  
Ошский государственный университет,  
Туманбаев Бекболсун Мырзабекович, врач  
радиационной гигиены отдела радиационной  
безопасности Департамента профилактики  
заболеваний и государственного санитарно-