

М. А. Туралиева, А. А. Ешибаев, б.ғ.д.

М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан
Мемлекеттік Университеті

ҚАРАҒАШ (*Ulmus pumila* L.) ДІҢІНІҢ АУРУЫН ҚОЗДЫРАТЫН ФИТОПАТОГЕНДІ САҢЫРАУҚҰЛАҚТЫҢ МОЛЕКУЛАЛЫ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ИДЕНТИФИКАЦИЯСЫ

Проведен микологический анализ возбудителя заболеваний карагача, аборигенного вида местной дендрофлоры южных регионов Казахстана. Установлено, что возбудителем заболеваний *U. pumila* является гриб *Fusarium solani*. Молекулярно-генетическая идентификация этого патогена проведена методом полимеразно-цепной реакции.

Ключевые слова: дендрофлора, *Ulmus pumila* L., *Fusarium solani*, ПТР-диагностика.



Қазақстанның оңтүстік облыстары дендрофлорасында кеңінен таралған майдажапырақты қарағаш өсімдігінің ауруларына микологиялық талдау жасалды. Олардың ішінде *U. pumila* ағаштарының ауруларын тудыратын фитопатогенді саңырауқұлақтар *Fusarium solani* бөлініп алынды. *F. solani* фитопатогенді микромицеттің молекула-генетикалық идентификациясы полимеразалық тізбектік реакция әдісі арқылы жүзеге асты.

Түйінді сөздер: дендрофлора, *Ulmus pumila* L., *Fusarium solani*, ПТР-диагностика.



Mycological analysis was conducted on causative agent of diseases of elm species, aboriginal type of local dendroflora of southern regions of Kazakhstan. It was established that the causative agent of *U. Pumila* diseases is fungus called *Fusarium solani*. Molecular genetic identification of this pathogen was carried out by using the method of polymerase chain reaction.

Key words: Dendroflora, *Ulmus pumila* L., *Fusarium solani*, PCR diagnostics

Дендрофлора елді мекендер мен қала экологиясында аса маңызды қызмет атқаратын бірегей құрылым. Ағаш тектес өсімдіктер, атмосфера құрамын аса уытты газдар мен майда қоспалардан тазартумен қатар, жергілікті климатты реттеу мен жақсартудың таптырмас биологиялық құралы болып табылады [1]. Абиотикалық факторлардың әсерінен тіршілік үрдістері төмендеген ағаш түрлерінде аурулар мен зиянкестердің зиянды әрекеттерінің көрінісі күннен-күнге арту үстінде. Мұндай күйзелістің тағы бір себебі - еліміздегі құрылыс жұмыстарының қарқындауы. Соңғы жылдары Оңтүстік Қазақстан облысына, басқа климаттық аймақтардан тасымалданған ағаш өнімдерімен бірге, көптеген аурулар мен зиянкестер жерсіндірілді. Олардың біршамасы, жаңа биотопқа жоғары дәрежеде бейімделудің нәтижесінде, қазіргі кезде қала дендрофлорасына айтарлықтай қауіп төндіретін қосымша факторға айналып үлгерді. Осыған байланысты, дендрофлораның экологиялық жағдайын жақсарту мақсатында, оны жоспарлы түрде зерттеу, фитосанитариялық жағдайдың өзгеру динамикасын үнемі бақылау және фитопатогендердің түрлік құрамын жаңашыл әдістер арқылы анықтау өзекті экологиялық зерттеу бағыттары болып табылады [2].

*Ulmus pumila*L. (*Ulmaceae*) Орталық Азия және Қытай елдерінде кеңінен таралған және елді мекендердегі ағаш бітімдерінің негізін құрайтын, аборигендік ағаш түрлерінің бірі болып саналады. Сонымен қатар, қарағаштың бұл түрі Шығыс және Оңтүстік Азия, Солтүстік Америка, Еуропа елдерінде де жерсіндіріліп, дендрофлора құрамына енгізілген [3-5]. Бұл құнды ағаш түрін өсіру үрдісіндегі қиындықтар көптеген аурулардың дамуымен тікелей байланысты. Мысалы, *Nectria (Nectriacinnabarina) Phyl.* және *Orhioostoma* туыстарына жататын саңырауқұлақтар тудыратын аурулар қарағаштың біршама елдердегі бітімдеріне айтарлықтай зиян келтіргені белгілі [6]. Бұл саңырауқұлақтардың ең қауіпті түрлерінің өсімдіктерді заладайтыны туралы алғашқы мәліметтер 1991-1995 жылдары жарық көрген болатын [7]. Аталған фитопатогендер Еуропа елдерінде олардың анаморфтық типтері арқылы тіркелген. Олардың алғашқысы толық жетілмеген саңырауқұлақ түрі *Graphium ulmi* болып анықталған. Бұл патогеннің

таралу аумағында, оның басқа анаморфты типіне жататын *Sporothrix* және дәл осы патогеннің ашытқы күйі табылған [8,9]. Бұл фитопатогеннің жоғары дәрежедегі зақымдаушылық қасиеті, алғаш рет Нидерланды елінде 1912-1919 жылдары анықталғандықтан, голланд ауруы немесе графиоз деп аталып кеткен [10]. Бұл аурудың залалынан *U. pumila* түрінің жергілікті бітімінің 70% толығымен тіршілігін жойған болатын. Кейінірек осындай жағдай басқа да Еуропа елдерінде, Канадада, Мексикада және АҚШ елдерінде тіркелген [11]. Бұдан бұрын жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижелеріне сәйкес, бұл аурулардың тасымалдаушылары болып ағаш тектес өсімдіктерінің қабық (*Scolytus* *scolytus*, *Scolytus multistriatus*, *Scolytus pygmaeus*, *Hylurgopinus rufipes*) және жапырақ жегіш зиянкестері (*Xanthogaleruca luteola*) саналады. *Fusarium* саңырауқұлағының кейбір түрлері өсімдіктердің алуан түрлерінің ауруға ұшырауын - тамырдың шіруін, дәнінің, жемісінің сонымен қатар солуын тудыруы мүмкін. *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. culniorum*, *F. gibbosum*, *F. semitectum*, *F. javanicum*, *F. heterosporum* туыстардың өкілдері бұршақ, қауын, картоп, қарбыз, қызанақ секілді өсімдіктердің тамырларының шіруіне душар етеді. Ал *F. graminearum* және *F. Nivale* түрлері бидайдың фузариозды ауруын тудырады [12-15]. Ағаш тектес аударлардың бұл саңырауқұлақтармен зақымдануы көптеген әдебиеттермен дәлелденеді. Мысалы үшін, ресейлік авторлардың пайымдауларына, *F. oxysporum*, *F. nivale* және *F. solani* қылқанжапырақтарға жоғары патогенділік әсер етеді. Олардың бөліп алған штамдары токсикалық, патогенділік дәрежесі бойынша гетерогенді екені анықталған. Сонымен қатар, кейбір штамдар патоген бола тұра инфекциялық процессті тудыруларыда мүмкін. Бөлініп алынған саңырауқұлақтардың ішінде қылқанжапырақтыларды зақымдайтын *F. oxysporum*, *F. nivale* және *F. Solani* штамдары көбірек зерттелген [16-21]. *Fusarium* туысының саңырауқұлақтары ағаштардың басқа түрлерінің зақымдануы Үнді елінің ғалымдарымен анықталған. Үндістанның Непал және Пенджап елді мекендерінде *Fusarium* 10 түрлі ағаштарға аса қатты қауіп түсіріп жатқандығын анықтаған. Бұл туысты саңырауқұлақтардың әсерінен *Dalbergiasissoo* Roxb. ағашы 70% тіршілігін жойылған. Бөлініп

алынған саңырауқұлақтардың ішінен айтарлықтай қаупі бар *Fusarium Solani* штаммы екені танылды [22-25].

Дегенмен, бұл аурудың Қазақстанда эпифитотиялық дәрежеде дамуы туралы ғылыми деректер тіркелмеген. Алайда, соңғы 10-15 жыл ішінде Оңтүстік Қазақстан облысы дендрофлорасындағы қарағаш түрлерінің экологиялық жағдайы күрт төмендеп кетті. Оның себебі оңтүстік өңіріне сырттан әкелінген *Monochamus urussovi* F., *Monochamus sutor* L., *Acanthocinus aedelis* L., *Cetonia aurea* L., *Cossus cossus*, *Xanthogaleruca luteola* және *Archips xylostena* сияқты қауіпті зиянкестердің шектен тыс көбеюімен және көптеген жаңа аурулардың таралуымен байланысты болып отыр [26-28]. Л. Серікбайдың мәліметтеріне сүйенер болсақ, қазіргі уақытта Оңтүстік Қазақстан облысындағы *U. pumila* түрінің ересек ағаштарының зиянкестермен зақымдану және аурулармен заладану дәрежесі 65-70% құрайды. Зиянкестер ағаш діңдерін тікелей зақымдап, оның тұтастығын бұзу арқылы фитопатогендік микроағзалардың дамуына жағдай тудыруда, ал бұл микрофлора, өз кезегінде, діңді шіру үрдісіне шалдықтыру арқылы, олардың тіршіліктерінің мерзімнен бұрын жойылуына себеп болып отыр [29]. Қазіргі кезде микроағзаларды идентификациялау полимеразалық-тізбектік реакция (ПТР) әдісіне негізделген. Бұл әдіс зерттелген нысанның филогенетикалық орнын молекулярлы-генетикалық деңгейде дәлелдеуге мүмкіншілік береді [30]. Осы себептен, *U. Pumila* түрінің қауіпті ауруларының бірін қоздыратын фитопатогендік микроағзаның түрін молекулярлы-генетикалық талдау әдісі бойынша анықтау және оның таксономиялық орнын анықтау біздің зерттеу жұмыстарымыздың басты мақсаты болып табылды.

Зерттеу әдістері және нысандары

Фитопатогенді бөліп алу. Фитопатогендік микроағзалар өсімдіктің тірі ұлпаларында даму арқылы олардың тіршілігіне залал келтіреді. Сондықтан, облигатты фитопатогендік микроағзалар таза дақылға қарағаштың ауруға шалдыққан діңінің заладанған тірі ұлпаларынан бөліпін алынды. Қарағаштың діңіндегі залалдану белгілері бар ұлпалары алдын ала кішкене бөлшектерге (2-5 мм) бөлінді. Таза дақылдарды өсіру алдында, аталған

бөлшектер 70% спиртпен өңделді, одан кейін стерилденген сумен, соңынан 1 % натрий гипохлоридымен 3 минут бойында шайылды. Осылай үстүрт стерилденген бөлшектер кептіріліп, бактериялардың өсуін тежейтін, сүт қышқылы қосылған картопты-глюкозалы агар (КГА) ортасына ендірілді. Инкубация 25°C температурада 24~48 сағат жүргізілді. Өсімдік сынамасының шетіне өсіп шыққан кез-келген мицелийлер идентификациялау үшін жеке Петри табақшаларындағы КГА қоректік ортасына егілді.

***U.rumila* ағашынан бөлініп алынған штаммдардың сипаттамасы.** Таза дақылда өсіп шыққан микромицеттер штаммдарының сипаттамасы, олардың қоректік ортаға өсіп шыққаннан кейінгі макро- және микроморфологиялық белгілері арқылы сарапталды. Олар макро- және микроморфологиялық белгілері бойынша, алдын-ала, *Fusarium* туысына жататын саңырауқұлақтар деп тұжырымдалды. Бұл фитопатогеннің таксономиялық орнын нақты анықтау молекулярлық талдау әдісі арқылы жүргізілді.

ДНҚ-ны бөлу. ДНҚ-ны бөлу үшін құрамында 100 mM Tris-HCl, pH 8,0, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% СТАВ, протеиназа К 100 g/ml бар буфер ерітіндісі қолданылды. Дақылды центрифугалаған соң, пробирканың бетінде пайда болған сұйықтықты төгіп тастап, тұнбаны стерильді ступкаға көшіреді. Сұйық азот қосып ұнтақ күйіне дейін езеді. Одан кейін 100 мкл көлемге дейін жеткізіп, стерильді 1,5 мл пробиркаға көшіріп, сәйкесінше үстіне 500 мкл буфер құйылды. 18 сағат инкубирлеп, фенол/хлороформмен тазалайды. 10 минут ішінде 12000 айн/мин центрифугалап, сулы фазасын төгіп тастап, жаңа пробиркаға құйып, фенол/хлороформ/изоамил спиртмен (24/24/1) қайта тазалайды. Сұйықтықты қайта төгіп тастап тұнбаны 15 минут ішінде кептіріп, TE буфердің 100 мкл ерітіндісімен -20°C температурада ұстайды. ДНҚ концентрациясын NanoDrop спектрометрін пайдалана отырып 260 нм толқын ұзындығында өлшенді.

ITS регионының ПТР-идентификациясы. ITS регионының ПТР-амплификациясы 30 мкл жалпы көлемде ITS 5' 5' - ggaagtaaaagtcgtaacaagg-3' және ITS 4' 5' - tcctccgcttattgatatgc -3' праймерлері арқылы жүргізілді. ПТР қосылысы 40нг ДНҚ, 1 бірлік

Тақ DNA Polymerase (Fermentas) ферменті, 0,2 mM әрбір дНТФ, 1-х ПТР буфер (Fermentas), 2,5 mM MgCl₂, 10 моль әр праймерден құралған. ПТР амплификация бағдарламасы бойынша ДНҚ сынамаcы 4 минут 95 °C температурада денатурациялануын қамтамасыз етеді, сонымен қатар, 95 °C - 25 секунд, 52 °C- 30 секунд, 72 °C - 40 секунд созылатын 30 айналымнан тұрады. Ақырғы элонгация сатысы 72 °C 7 минут жүргізілді. ПТР бағдарламасы DNA Engine Tetrad 2 Cyclor PTC-0240 (Bio-Rad) амплификаторының қолданылуымен жүзеге асырылды. Біріншілік қарқынды денатурация 5 минут ішінде 95 °C жүргізілді. Одан кейінгі 35 айналым 94 °C температурада 1 минут ішінде өтті. ДНҚ амплификациясының келесі кезеңі (отжиг) 55 °C температурада 1 минут ішінде, ал кеңею кезеңі 72 °C температурада 2 минут ішінде іске асырылды. Ақырғы кеңею кезеңі 10 минут бойында жүргізілді. Амплификация сынамалары 1,0 % агарозалық гелде (Amresco) трис Борат ЭДТА (БЭ) көмегімен электрофорез арқылы бөлінді. Электрофорезден кейін гель БЭ көмегімен боялып, УФ жарығымен GeneSnap photo imaging system (SynGene) арқылы суретке түсірілді.

Зерттеу нәтижелері және талдау

Зақымдаған U.pumila ағаштарынан фитопатогенді микромицеттерді бөліп алу.

Зертханалық зерттеу жұмыстарының барысында стерилді қоректік ортаға егілген сынама бөлшектерден микроскопиялық саңырауқұлақтардың таза дақылдары бөлініп алынды. Таза дақылдағы ақ түсті колониялар 4 тәулік ішінде қарқынды өсіп, 4-4,5 см көлеміндегі мицелийлерін дамытты (1 сурет). Колониядағы спорангийлердің дамуына байланысты, оның түсі көк-қоңыр немесе қызғылт түске боялды. Макро- және микроконидийлері 4-7 тәулік аралығында дамыды. Микроконидийлері цилиндр немесе сопақша пішінді болып анықталды. Бұл белгілері бойынша, зерттелген микроскопиялық нысан *Fusarium* туысына жататын түрдің штаммдары болып анықталды. Бұл тұжырым, зерттеуіміздің келесі кезеңінде, полимеразалық-тізбектік реакция әдісі бойынша нақтыланды.



1 сурет. Зақымданған *U.pumila* ағашынан бөлініп алынған *Fusarium* туысты саңырауқұлағының колониясы

Fusarium туысты саңырауқұлағының 2ү штаммының молекулалық-генетикалық идентификациясы

Молекулалық-генетикалық идентификациялау ДНҚ-ның ITS регионының тізбектерін белгілі базалық мәліметтермен салыстыру арқылы жүргізілді. Зерттеу барысында біз бөліп алған *Fusarium* саңырауқұлағының 2ү штаммының ITS регионының амплификацияланатын бөлігі белгіленді (2 сурет). Келесі кезекте, ол BLAST және NCBI мәліметтер базасындағы саңырауқұлақтардың тізбектерімен салыстырылды. Зерттеу нәтижелері бойынша, 2ү штаммының ITS регионының тізбектері базадағы *F. Solani* штаммына 100% сәйкес келіп, оның түрлік атауы анықталды (GenBank Инвентарлық нөмірі: FJ914886.1).

```
CCTCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATTCCT
ACCTGATTCGAGGTCAACTTCAGAAGAGTTGGGGGTTTAA
CGGCGTGGCCGCGCCGCTCTCCAGTCGCGAGGTGTTAGCT
ACTACGCGATGGAAGCTGCGGCGGGACCGCCACTGTATTT
GGGGGACGGCGTGTGCCACGGAGGGCCTCCGCCGATCCC
CAACGCCAGGCCCGGGGGCCTGAGGGTTGTAATGACGCTC
GAACAGGCATGCCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTG
CGTTCAAAGATTGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA
TTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAGC
CAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTATTTGCTTGTTT
TACTCAGAAGAAACATTATAGAAACAGAGTTAGGGGGTCC
```

TCTGGCGGGGGCGGCCCGTTTTTCACGGGGCCGTCTGTTCCC
GCCGAGGCAACGTTTAGGTATGTTACAGGGTTGATGAGTT
GTATAACTCGGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGA
G A C C T T G T T A C G A C T T T T A C T T

2-сурет. *F.solani* 2у штаммының ITS регионының тізбегі

Сонымен, қорытындылай келе, микологиялық талдау өз кезегінде зақымданған өсімдік сынамаларын жинаудан саңырауқұлақтардың идентификациясына дейін ұзақ уақытты қажет ететін әдіс болып табылады. Ал ПТР-диагностика микроағзаларды анықтауда, дәстүрлі идентификациялау әдісіне қарағанда әлдеқайда ыңғайлы, тез, және идентификациялық дәлдігі жоғары өтетін заманауи әдіс. Біздің жүргізген зерттеулеріміздегі морфологиялық сипаттамалардың және молекулалық идентификациялардың нәтижелеріне сәйкес, Оңтүстік Қазақстан облысы дендрофлорасының басты өкілдерінің бірі *U.pumila* ағаш түрінің ауруларын қоздыратын микроскопиялық саңырауқұлақтың *Fusarium solani* екені анықталды.

Әдебиеттер

1 Денисов С.А. Влияние леса на газовый состав, чистоту и гигиеничность атмосферы: учеб. пособие. - Йошкар-Ола. - МарГУ, 1982.- 48 с.

2 Иванов, С. И. Организация экологического мониторинга окружающей среды в ООО "Оренбурггазпром" // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. - 2006. - №1. - С. 3-5.

3 *Ulmus L.* Вяз, Ильм или Берест // Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. - М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. - Т. 2. Покрытосеменные. - С. 509-510.

4 *Fu, L., Xin, Y. &Whittemore, A. (2002). Ulmaceae, in Wu, Z. & Raven, P. (eds) Flora of China, Vol. 5 (Ulmaceae through Basellaceae), Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, USA.*

5 Сихымбаев Ә.Е., Керімбекова Т.Қ., Сихимбаева С.М., Оңтүстік Қазақстан облысындағы интродукцияланған өсімдіктер. Оқу-әдістемелік құрал. - Шымкент, 2005. - С. 31-34.

6 Smalley, E. & Guries, R. P. (1993). Breeding elms for resistance to Dutch elm disease, Annual Review of Phytopathology. P. 25-352.

7 Сидорова И. И. Группа порядков Плектومیцеты. Порядок Микроасковые. Офиостома вязовая // Мир растений: в 7 томах / под ред. А. Л. Тахтаджяна. - М.: "Просвещение", 1991. - Т. 2. Слизики. Грибы. - С. 125-126. - ISBN 5-09-002841-9

8 Голландская болезнь ильмовых пород. // Энциклопедия лесного хозяйства: в 2 томах. - М.: ВНИИЛМ, 2006. - Т. 1. - С. 155-156.

9 Белякова Г. А., Дьяков Ю. Т., Тарасов К. Л. Ботаника: в 4 томах. - М.: "Академия", 2006. - Т. 1. Водоросли и грибы. - С. 194-195.

10 Ярмоленко А. В. Род 369. Ильм, Вяз или Берест - *Ulmus L.* // Флора СССР. В 30 т. - М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1936. - Т. V. - С. 360-373.

11 Mittempergher, L. & Santini, A. (2004). The History of Elm Breeding. Invest. Agrar.: Sist Recur For. 2004 13 (1). - P. 161-177.

12 Корневые гнили яровой пшеницы / Под ред. С.М.Тупеневич, 1974. - С. 1-64.

13 Рекомендации по защите хлебных злаков от корневых гнилей / под ред. Хохрякова М.К. и др. Мин-во сельского хоз-ва СССР. - М., 1978. - С. 1-28.

14 Бенкен А.А., Хацкевич Л.К., Нестеров А.Н. Проблема корневой гнили злаков. Микология и Фитопатология. - 1987. - 21, 6. - С. 566-573.

15 Бабаянц Л.Т., Клечковская Е.А. Оценка устойчивости пшеницы к фузариозной гнили: Метод. реком. - Одесса, 1988. - С. 1-20.

16 Jones, J.P., and Woltz, S.S. 1981. Fusarium-incited diseases of tomato and potato and their control. Pages 157-168. in Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy.

17 Квашнина Е.С. Физиолого-экологическая характеристика видов рода *Fusarium* секции *Sporotrichiella* // Микология и

фитопатология. - 1976. - Т. 10, вып. 4. - С. 275-282.

18 *Квашнина Е.С.* Морфолого-культуральные свойства видов рода *Fusarium* секции *Sporotrichiella* и их ареал в СССР // Микология и фитопатология. - 1979.-Т.13, вып. 1. - С. 3-10.

19 *Кивиниеми С.Н.* Фузариоз в лесных питомниках Карелии // Защита питомников и молодняков от вредителей и болезней: Тез.докл. Всесоюз. науч.-техн. совещ., г. Челябинск, 10-14 сент. 1990. - М., 1990. - С. 33-35.

20 *Кузнецов А. И.* Полегание сеянцев хвойных пород в условиях Мурманской области и меры борьбы с ним // Микробиологические и фитопатологические исследования на Кольском Севере. - Апатиты, 1991. - С. 87-91.

21 *Ноздренко Я. В.* Важнейшие грибные болезни сеянцев хвойных пород в лесных питомниках Новосибирской области // Защита питомников и молодняков от вредителей и болезней: Тез.докл. Всесоюз. науч.-техн. совещ. - М., 1990. - С. 68-69.

22 *Pak. J. Bot.*, 40(6): 2631-2639, 2008. Pathogenicity and host range of *Fusarium solani* (mart.) Sacc.causing dieback of Shisham (*DalbergiasissooRoxb.*) n.a. Rajput1*, m.a. Pathan1, m.m.Jiskani, a.q. Rajput 2 and r.r. Arain1.

23 *Javid A., R. Bajwa and A. Tahmina.* 2004. Tree dieback in Punjab, Pakistan. *Mycopath*, 2: 1-5.

24 *Khan M.M., T. Mahmood and R.M. Rafique.* 1999. Diagnostic study of shisham dieback in Punjab. Forestry Research Institute, Faisalabad. Proc. of 2nd Natl. Conf. of Plant Pathol. Sept. 27-29. Univ. of Agri. Faisalabad. - P. 15-19.

25 *Khan M.M. and M.H.Khan.* 2000. Dieback of *DalbergiasissooRoxb.* in Pakistan. In: Proc. of the Sub-Regional seminar on dieback of sissoo (*DalbergiasissooRoxb.*), Katmandu, Nepal, 25-28. April 2000. - P. 51-56.

26 *Нуртазаева Н.* Влияние усиления процесса урбанизации на экологическое состояние дендрофлоры // Тр. Междунар. выставки-конф. "Наука, техника и инновационные технологии в эпоху великого возрождения". - Ашхабад. 2011. - С. 189-193.

27 *Нуртазаев Н., Алеуова С.,* Результаты исследования биологии развития вредителей *Monochamusurussovi* и

Xanthogalerucaluteola // Науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. "Проблемы современного образования и науки". - Шымкент. - 2010. - С. 439-443.

28 *Miller F. and Ware G.* (2001). Resistance of Temperate Chinese Elms (*Ulmus* spp.) to Feeding of the Adult Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) // *Journal of Economic Entomology* (Entom.Soc.of America) 94 (1). - P. 162-166.

29 *Серікбай Л.* Шымкент қаласы дендрофлорасының фито-санитарлық жағдайын бағалау / Республикалық студенттер конференциясы. - Шымкент, 2011. - 216 б.

30 *Wilson K.* Preparation of genomic DNA from bacteria. *Current Protocols in Molecular Biology*. Editors (Editors Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., et al.). - New York: Wiley. - 1987. - 650 p.