

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 325 (2018), 102 – 106

A. K. Sadanov<sup>1</sup>, O. N. Shemshura<sup>1</sup>, U. Sh. Ibishev<sup>2</sup>, A. Sh. Mambaeva<sup>2</sup>, B. Lozovicka<sup>3</sup>

<sup>1</sup>RGE "Institute of Microbiology and Virology" SC MES RK, Almaty, Kazakhstan,

<sup>2</sup>NJS «Kazakh National Agrarian University», Almaty, Kazakhstan,

<sup>3</sup>State Research Institute "Plant Protection", Belostok, Poland.

E-mail: a.sadanov@inbox.ru, o.gashemshura@mail.ru,

u.ishibev@mail.ru, a.mambaeva@mail.ru, b.lozowicka@iorpid.poznan.pl

## NEW STRAINS OF FUNGI OF GENUS *TRICHODERMA*, ALLOCATED FROM THE RHIZOSPHERE OF CUCUMBERS AND POTATOES GROWING IN THE ALMATY REGION

**Abstract.** This paper presents the results of a microbiological analysis of soil samples taken from the rhizosphere of potato of sort "Gala" and rhizosphere of cucumbers of "Buyan F1" sort, cultivated in the Almaty region of Kazakhstan for the presence of soil saprophytic fungi of the genus «*Trichoderma*». A morphological-microscopic description of two new strains of «*Trichoderma*» fungus is given. According to the characteristic morphological and microscopic features, the isolates obtained from the soil of the rhizosphere of the potato of sort "Gala" and cucumbers of sort "Buyan F1" were accordingly attributed to the species «*Trichoderma asperellum*» and «*Trichoderma album*».

**Keywords:** rhizosphere, cucumber, potato, strain, fungi, *Trichoderma*.

УДК 632.93

А. К. Саданов<sup>1</sup>, О. Н. Шемшюра<sup>1</sup>, У. Ш. Ибишев<sup>2</sup>, А. Ш. Мамбаева<sup>2</sup>, Б. Лозовицка<sup>3</sup>

<sup>1</sup>РГП «Институт микробиологий и вирусологий» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>НАО «Казахский Национальный аграрный университет», Алматы, Казахстан,

<sup>3</sup>Государственный исследовательский институт «Защита растений», Белосток, Польша

## НОВЫЕ ШТАММЫ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA*, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ РИЗОСФЕРЫ ОГУЦОВ И КАРТОФЕЛЯ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

**Аннотация.** В настоящей работе представлены результаты микробиологического анализа образцов почвы, взятых из ризосферы картофеля сорта «Гала» и огурцов сорта «Буян F1», культивируемых в Алматинской области Казахстана на наличие почвенных сапрофитных грибов рода *Trichoderma*. Дано морфолого-микроскопическое описание двух новых штаммов гриба *Trichoderma*. По характерным морфологическим и микроскопическим признакам изоляты, полученные из почвы ризосферы картофеля сорта «Гала» и огурцов сорта «Буян F1», были соответственно отнесены к видам *Trichoderma asperellum* и *Trichoderma album*.

**Ключевые слова:** ризосфера, огурцы, картофель, штамм, грибы, *Trichoderma*.

Одним из важных направлений современных исследований является повышение продуктивности растений. Этот показатель зависит от видовой принадлежности и от условий выращивания растений. Большое влияние на рост и развитие растений оказывают почвенные микроорганизмы. Следует отметить, что среди них встречаются как фитопатогены, оказывающие отрицательное воздействие, так и микроорганизмы – антагонисты, оказывающие положительное влияние на растительный организм [1-3].

Одним из самых распространённых на планете микроскопических грибов являются грибы рода *Trichoderma*, подавляющие более 60 видов возбудителей болезней растений [1-3].

Весьма перспективно использование препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* в борьбе с корневыми гнилями. Корневые гнили в настоящее время – это бич полей, занятых под зерновые, зернобобовые, овощные, технические и другие культуры. Особую опасность представляют фузариозные корневые гнили, возбудителями которых являются грибы рода *Fusarium*. Они поражают как огурцы, так и картофель в течение всей вегетации [4-6]. Некоторые виды *Fusarium* продуцируют опасные микотоксины, заражая зерно, вызывают тяжёлые заболевания людей и животных [7].

Кроме фузариозной гнили, большой вред приносит белая гниль, возбудитель *Sclerotinia sclerotiorum*. Болезнь поражает растения как открытого, так и защищенного грунта. Проявляется на всех органах растений во все фазы их развития. Вызывает гибель всходов, увядание взрослых растений, загнивание плодов [8].

На поздних стадиях роста и развития растения поражается альтернариозом, возбудителем которого является *Alternaria* spp. Заражение посевов альтернариозом начинается со спор, оставшихся на стерне. Также инфицирование может произойти и во время периода вегетации [9].

Также следует отметить такое заболевание, как фитофтороз, возбудителем которого является *Phytophthora infestans* [10].

Фитофтора, как любой гриб, состоит из мицелия, спорангия и конидия. Мицелий имеет вид паутины белого цвета. Он живет и развивается в тканях растений. Размножается гриб спорами и бесполом способом – конидиями. Споры образуются в спорангиях. После того, как споры созревают, оболочка спорангия разрывается, и они выходят наружу. Дальше распространяются с водой, попадают на растения и начинают новый жизненный цикл.

Целью настоящей работы явилось выявление грибов рода *Trichoderma* в ризосфере огурцов сорта «Буян F1» и картофеля сорта «Гала», произрастающих в Алматинской области для дальнейшего использования их в качестве агентов биологического контроля фитопатогенов, поражающих овощные культуры.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили образцы почвы, полученные в 2017 году из ризосферы огурцов сорта «Буян F1» и картофеля сорта «Гала», произрастающих в КХ «Галым» Саркандского района Алматинской области.

Выделение грибов из почвенных образцов проводили общепринятыми в микробиологии методами [11].

Почвенную суспензию высеивали на питательную среду Чапека в чашки Петри.

Состав среды Чапека (г/л): сахароза – 20,0;  $\text{NaNO}_3$  – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  – 0,01; агар – 20,0.

Колонии грибов изолировали с чашек Петри на скошенную питательную среду того же состава. Чистую культуру гриба (штамм) получали после ряда пассажей.

Морфолого-микроскопические исследования выделенных штаммов проводили на среде Чапека, идентификацию проводили по соответствующим определителям [5, 10].

**Результаты и обсуждения.** Проведен микробиологический анализ образцов почвы из ризосферы картофеля и огурцов, произрастающих в КХ «Галым» Саркандского района Алматинской области. Из ризосферы картофеля «Гала» и огурцов «Буян F1» было выделено по одному изоляту гриба рода *Trichoderma*.

Морфолого-микроскопическая характеристика изолята, выделенного из ризосферы картофеля «Гала».

На среде Чапека сначала развивается мощный, гладкий, радиально расходящийся субстратный мицелий сероватого цвета. Сероватый оттенок мицелия создается за счет некоторой приподнятости мицелиев к поверхности субстрата. За двое суток средний радиус колонии достигает 3-4 см.

Средний диаметр вегетативной гифы равен 8-15 мк. Поверхность колонии гриба до образования воздушного мицелия ровная, однородно-волокнистая, расходящаяся от центра посева на периферию. Через 30-35 часов после посева от субстратных мицелиев поднимается равномерный воздушный мицелий ватообразной структуры, серовато-белого цвета. Газон воздушного мицелия развивается с незначительным (2-3 мм) отставанием от края колоний, образованного субстратным мицелием.

Начало конидиеобразования наступает постепенно в течение 70-80 часов после посева при содержании культуры в термостате при 27°C. Конидиеобразование происходит во всей поверхности газона вначале в виде небольших разбросанных клубочков размером 3-5 мм, а затем, разрастаясь, они сливаются, образуя сплошной конидиальный газон.

Цвет конидиального газона меняется от матово светло-зеленого оттенка при молодом возрасте до матово темно-зеленого в зрелом возрасте.

На агаризованной воде конидиеносцы поднимаются вверх, независимо от положения вегетативных гиф мицелия, в зрелом виде и высота их в среднем около 40-50 мк, они разветвлены дихотомически или крестообразно, диаметр средней части равен 5-6 мк. Боковые расходятся от главной ветви конидиеносца ярусами, и нижние боковые ветви могут дать вторичные ветвления, на конце которых мутовками расположены стеригмы не более 4 штук на одном месте. Стеригмы кеглевидные, длина в среднем равна 5 мк. На конце стеригм формируются конидиальные головки, они шаровидные, до 10 мк в диаметре. В головках под микроскопом просматриваются конидиоспоры, которые при созревании легко рассыпаются, особенно при высокой влажности. Споры шаровидные и реже, при одиночном рассмотрении бледно-зеленые, но в массе темно-зеленые, диаметр 2,5-3,5 мк.

Встречаются интеркалярные хламидоспоры, шарообразные, гладкие диаметром 8-10 мк. Обратная сторона колонии не окрашена. Зрелая культура этого гриба специфический грибной запах.

По морфолого-микроскопическим признакам изолят отнесен к виду *Trichodermaasperellum* (рисунок 1).



Рисунок 1 – Культура гриба *Trichodermaasperellum*:  
а – рост на питательной среде Чапека; б – микроструктура

Морфолого-микроскопическая характеристика изолята, выделенного из ризосферы огурца сорта «Буян F1».

На среде Чапека сначала развивается обильный бесцветный (стекловидный) мицелий, который от точки посева простирается радиально, образуя плоскую колонию волокнистой структуры. Средний диаметр вегетативной гифы равен 9-12 мк. За двое суток средний радиус колоний достигает лишь 1-1,5 см, а к началу второй недели роста он равен 3-4 см. В это время на поверхности колонии гриба появляются отдельные белые пучки воздушного мицелия, напоминающие кучевые облака. Размер этих пучков вначале от 2 до 5 мм, затем они, разрастаясь, постепенно сливаются



между собой, образуя сплошной бугристый грибной газон. Воздушный мицелий в своем развитии отстает от субстратных на 10-15 мм.

К середине второй недели роста на поверхности грибного газона появляются мелкие, редкие, белые с желтым оттенком крупинки (начало конидиеобразования), которые постепенно к концу второй недели роста приобретают яично-желтый, а затем зеленовато-желтый цвет. По сравнению с другими видами рода рост и развитие этого вида значительно более медленное.

На агаризованной воде конидиеносцы хорошо различимы, они поднимаются от веток воздушного мицелия и имеют высоту 25-30 мк, а диаметр срединной части 5-6 мк. Разветвление дихотомитрическое, чаще всего, крестообразное. На концах ветвей размещаются стеригмы, их количество не более 5, а размеры могут быть разные, но не более 5 мкв длину. На вершинах стеригм расположены бесцветные конидиальные головки круглой формы, состоящие из скопления конидиеспорсклеенных между собой слизистым веществом. Эти конидиальные головки внешне напоминают ягоды ежевики и имеют размер 12-15 мк. Конидиеспоры в головках под микроскопом хорошо просматриваются, в отдельности они почти бесцветные, но преломляют свет, круглые, овальные или яйцевидные, часто с одного конца несколько заостренные, гладкие, величиной в среднем 4x3,5 мк.

Хламидоспоры встречаются редко, интеркалярные, круглые, гладкостенные, 6-8 мк в диаметре. В процессе развития гриба пигмент в субстрат не выделяется. Однако обратная сторона колонии имеет желтую окраску. По морфолого-микроскопическим признакам изолят отнесен к виду *Trichoderma album* (рисунок 2).

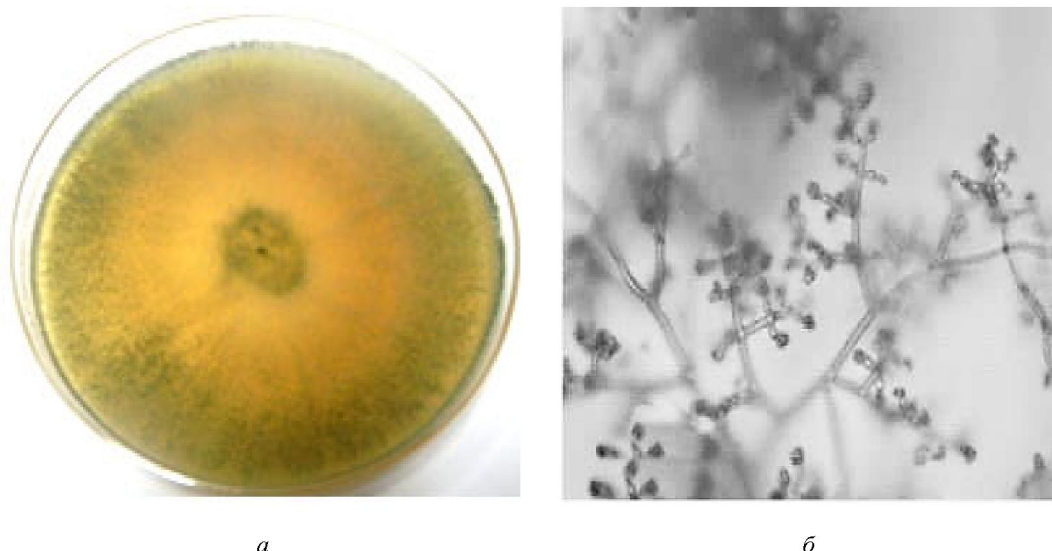


Рисунок 2 – Культура гриба *Trichoderma album*:  
а – рост на питательной среде Чапека; б – микроструктура

Таким образом, из ризосферы картофеля сорта «Гала» и огурцов сорта «Буян F1», культивируемых в Алматинской области Казахстана, выделено два новых штамма гриба *Trichoderma*, которые по морфологическим и микроскопическим признакам отнесены к видам *Trichoderma asperellum* и *Trichoderma album*. Планируется исследование антагонистической активности новых штаммов против возбудителей болезней картофеля и огурцов с целью разработки на их основе эффективных отечественных биопрепаратов для защиты растений.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Алимова Ф.К. Некоторые вопросы применения препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* в сельском хозяйстве // АГРОХИ научно-практический журнал. – 2006. – № 4-6. – С. 18-21.
- [2] Ramaraju Cherkupally, Hindumathi Amballa, Bhumi Narasimha Reddy. In Vitro Antagonistic activity of *Trichoderma* and *Penicillium* species against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) goid // Annals of Biological Research. – 2016. – Vol. 7, N 9. – P. 34-38.

- [3] Khaledi N., Taheri P. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* // Journal of plant protection research. – 2016. – Vol. 56, N 1. – P. 21-31.
- [4] Stefańczyk E., Sobkowiak S., Brylińska M., Śliwka J. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland // Eur J Plant Pathol. – 2016. – N 145. – P. 871-884.
- [5] Vatchev T.D. *Fusarium* root and stem rot of greenhouse cucumber: aerial dispersal of inoculum // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2015. – Vol. 21, N 3. – P. 650-654.
- [6] Babychan M., Simon S. Efficacy of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) infecting pre- and post-seedling of tomato // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2017. – Vol. 6, N 4. – P. 616-619.
- [7] Guerre P. Fusariotoxins in Avian Species: Toxicokinetics, Metabolism and Persistence in Tissues // Toxins. – 2015. – N 7. – P. 2289-2305.
- [8] Purdy L.H. Sclerotinia sclerotiorum: History, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. – 1979. – Vol. 69, N 8. – P. 875-880.
- [9] Gilardi G., Gullino M.L., Garibaldi A. Occurrence of *Alternaria* spp. in the seeds of basil and its pathogenicity // Journal of Plant Pathology // Center of for Agro-Environmental Innovation (AGROINNOVA), University of Torino, Via Leonardo da Vinci 44, 10095 Grugliasco (TO). Italy, 2013, 95 (1). – P. 41-47.
- [10] Olanya O.M., Larkin R.P., Honeycutt C.W. Incidence of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary on potato and tomato in Maine, 2006–2010 // Journal of plant protection research. – 2015. – Vol. 55, N 1. – P. 58-68
- [11] Билай В.И. Изучение элементов морфологии грибов. Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наукова Думка, 1982. – С. 25-75.

**А. К. Саданов<sup>1</sup>, О. Н. Шемшура<sup>1</sup>, У. Ш. Ибишев<sup>2</sup>, А. Ш. Мамбаева<sup>2</sup>, Б. Лозовицка<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ҚР БЖҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты», Алматы, Қазақстан,

<sup>2</sup>КЕАҚ «Қазақ ұлттық аграрлық университеті», Алматы, Қазақстан,

<sup>3</sup>Государственный исследовательский институт «Защита растений», Белосток, Польша

#### **АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНДА ӨСЕТІН КАРТОП ПЕН ҚИЯР РИЗОСФЕРАСЫНАН БӨЛІНІП АЛЫНҒАН *TRICHODERMA* ТЕКТЕС САҢЫРАУҚҰЛАҚТАРДЫҢ ЖАҢА ШТАММДАРЫ**

**Аннотация.** Жұмыста Қазақстанның Алматы облысында өсірілетін, картоп «Гала» және қияр «F1 Буян» ризосферасының топырағынан алынған жинақта *Trichoderma* тегінің сапрофиттік саңырауқұлақтарының болу үлгілерін микробиологиялық талдау нәтижелері ұсынылған. Екі *Trichoderma* саңырауқұлақтарының жаңа штаммдарына микроскопиялық морфологиялық сипаттамасы берілген. «Гала» картоп пен «F1 Буян» қиярдың ризосфера топырағынан ажыратып алынған, морфологиялық және микроскопиялық сипатына тән, тиісінше *Trichoderma asperellum* және *Trichoderma album* түрлеріне жатқызылды.

Қияр «Буян F1» мен «Гала» картобының ризосферасынан алынған, *Trichoderma* тектес саңырауқұлақтар өсіріндісі туралы деп, пікір ұсынылды. Бұл зерттеу ең көп таралған микроскопиялық саңырауқұлақтар тегі - *Trichoderma* тегіне арналады. Тамыр шірік қоздырғыштарына қарсы-антагонизм танытатын *Trichoderma* саңырауқұлақ өндіру үшін эксперименттік әдістері жасалды. Алматы облысында өсіп келе жатқан көкөніс дақылдары ризосфера топырағынан, ең агрессивті антагонистер бөлініп алынды.

**Түйін сөздер:** ризосфера, қияр, картоп, штамм, саңырауқұлақтар, *Trichoderma*.

#### **Сведения об авторах:**

Саданов А.К. – РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

Шемшура О.Н. – РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

Ибишев У.Ш. – НАО «Казахский Национальный аграрный университет», Алматы, Казахстан,

Мамбаева А.Ш. – НАО «Казахский Национальный аграрный университет», Алматы, Казахстан,

Лозовицка Б. – Государственный исследовательский институт «Защита растений», Белосток, Польша.