

Омургазиева Ч.М., Толобаева Ж.М., Каулбекова А.А.

**КЫРГЫЗСТАНДЫН ТАБИГЫЙ ЖАНА ТЕХНОГЕНДИК
АЙМАКТАРЫНЫН ТОПУРАК МИКРОМИЦЕТТЕРИНИН
ШТАММДАРЫНЫН ФЕНОТИПТИК КАСИЕТТЕРИ**

Омургазиева Ч.М., Толобаева Ж.М., Каулбекова А.А.

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ
ПОЧВЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ЕСТЕСТВЕННЫХ
И ТЕХНОГЕННЫХ ЗОН КЫРГЫЗСТАНА**

Ch.M. Omurgazieva, J.M. Tolobaeva, A.A. Kaulbekova

**THE PHENOTYPIC PROPERTIES OF THE STRAINS
SOIL MICROMYCETES OF NATURAL AND TECHNOGENIC
ZONES OF KYRGYZSTAN**

УДК: 579.2

Макалада Кыргызстандын табигый жана техногендик аймактарынын топурактарынан бөлүнүп алынган микромицеттик козу карын штаммдарынын культуралдык-морфологиялык жана биохимиялык касиеттерин изилдөөнүн жыйынтыктары берилди. Бөлүнүп алынган микроскоптук козу карындардын штаммдары металлдардын – сымап, коргошун, цинк жана кадмийдин чектелген концентрациясынан (ЧК) 1-25 эсеге чейин жогорку концентрацияларында өсүү жөндөмдүүлүктөрү боюнча тандалып алынган. Изилдөөнүн жыйынтыгында, аталган топурак микромицеттеринин 10 штаммы идентификацияланды, алардын 2 штаммы *Cephalosporium spp*, 4 штаммы *Cladosporium spp*, 2 штаммы *Paecilomyces spp*, 1 штамм - *Trichoderma viride* жана 1 штамм – *Penicillium viridicatum* козу карындары катары аныкталды. Бул штаммдар экологиялык биотехнология жаатындагы биоремедиациялык изилдөөлөр үчүн ынгайлуу модель катары келечекте колдонуу мүмкүнчүлүгү кенири, анткени алар тез көбөйүүгө жөндөмдүү жана уулуу элементтердин таасирин басанда туучу таасирлери менен кызыктуу. Ошондой эле микромицеттик козу карындар жогорку технологиялык касиеттерге ээ, экологиялык стресске өтө туруктуу жана алар атайын даярдалган азык субстраттарына муктаж эмес.

Негизги сөздөр: штаммдар, микроскоптук козу карындар, топурак үлгүлөрү, техногендик зоналар, культуралдык-морфологиялык касиеттер.

В статье даны результаты исследований культурально-морфологических и биохимических свойств штаммов микроскопических грибов, выделенные из почв естественных и техногенных зон Кыргызстана. Выделенные штаммы микроскопических грибов были отобраны по способности к росту при высоких концентрациях металлов ртути, свинца, цинка и кадмия превышающие ПДК в 1-25 раз. Идентифицированы 10 штаммов почвенных микромицетов, из них 2 штамма, как *Cephalosporium spp*, 4 штаммов - *Cladosporium spp*, 2 штамма - *Paecilomyces spp*, 1 штамм - *Trichoderma viride* и 1 штамм, как *Penicillium*

viridicatum. Эти штаммы в перспективе могут быть использованы в целях биоремедиации загрязненных почв, как удобной моделью экологической биотехнологии, так как они быстро размножаются и могут оказать свое действие на отрицательное влияние ядовитых элементов, а также они высокотехнологичны, нетребовательны к субстрату, устойчивы к экологическому стрессу.

Ключевые слова: штаммы, микроскопические грибы, почвенные образцы, техногенные зоны, культурально-морфологические свойства.

The article presents the results of studies of cultural-morphological and biochemical properties of microscopic fungi strains isolated from the soils of natural and man-made zones of Kyrgyzstan. The isolated strains of microscopic fungi were selected for their ability to grow at high concentrations of metals, mercury, lead, zinc and cadmium, exceeding MPC by 1-25 times. As a result of our studies, we identified 10 strains of soil micromycetes, of which 2 strains were identified as *Cephalosporium spp*, 4 strains - *Cladosporium spp*, 2 strains - *Paecilomyces spp*, 1 strain - *Trichoderma viride* and 1 strain as *Penicillium viridicatum*. In perspective, these strains can be used in bioremediation studies as a convenient model of environmental biotechnology, as they multiply rapidly and can have a negative effect on toxic elements, as well as they are high-tech, undemanding to the substrate, resistant to environmental stress.

Key words: strains, microscopic fungi, soil samples, technogenic zones, cultural and morphological properties.

Актуальность темы. В последние годы в связи с бурным развитием биотехнологии возрастает интерес к микроскопическим грибам, так как грибы являются объектами биотехнологии, продуцентами различных хозяйственно-значимых ферментных препаратов. Синтезируемые грибами ферменты находят применение в пищевой и легкой промышленности, сельском хозяйстве, медицине и медицинской промышленности [6; 8].

Известно, что загрязнение почвы тяжелыми металлами может или угнетать сообщество микроскопических грибов в почве или стимулировать их развитие [2]. В очистке наземных экосистем путем биотехнологических процессов главную роль получила процесс – **биоремедиации** - комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием метаболического потенциала биообъектов – микроорганизмов, растений и других организмов [3; 4].

Цель настоящей работы - исследование культурально-морфологических и биохимических свойств штаммов микроскопических грибов, выделенные из различных типов почв естественных и техногенных зон Кыргызстана.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования явились 10 штаммов чистых культур почвенных микроскопических грибов. Эти штаммы были выделены из различных типов почв естественных (Ат-Башинский район, с. Кара-Суу, 2007-2010, 2012 гг.) и техногенных зон Кыргызстана (ураново-радиоактивная хвостохранилища Туяк-Суу, Талды-Булак, Джумгалский район, пос. Мин-Куш, 2012-2017 гг.) Исследованные штаммы хранятся в коллекции микробиологической лаборатории кафедры Ботаники и физиологии растений факультета биологии КНУ им. Ж.Баласагына.

Для определения диагностических признаков были использованы наиболее благоприятные для образования спороносящего воздушного мицелия среды: Сабуро и Чапек с сахарозой.

Питательная среда Сабуро (мг/л дисс.воды): панкреатический гидролизат рыбной муки 10.0; панкреатический гидролизат казеина 10.0; дрожжевой экстракт 2.0; натрия фосфат однозамещенный 2.0; Д-глюкоза 40.0; агар 10.0; (рН 7.2.), среда Чапека: сахара - 20,0; NaNO₃ – 2.0; K₂ HPO₄ -1.0; MgSO₄ 7 H₂O – 0.5; KCL – 0.5; CaCO₃ – 3.0; агар – 20.0

Определение культуральных свойств штаммов микромицетов: отмечены скорости роста колонии при температуре: +5, +25, +37; внешний вид колонии; консистенции (бархатистая, пушистая, шерстистая, шероховатая и др.). Отмечены формы и цвет, края колонии. Описывали окраску спороносящей части стерильного мицелия (ВМ), изменения окраски во времени; Отмечены окраска обратной стороны колонии (СМ) и диффузию пигмента в агар, определяющую окраску окружающего агара [1; 5].

Определение морфологических свойств штаммов микромицетов: наличие, ветвления и цвет конидиеносца, степень его развития, цвет и формы конидий, поверхность, размеры, расположение конидий на конидиеносцах (одиночные, головкой, цепочками и т.д.) и расположение на фиалидах, а также наличие, число и расположение перегородок, наличие

придатков у конидий, и т.д. [1; 5]. Идентификацию штаммов проводили по Определителям [6; 7].

Ферментативную активность штаммов микромицетов изучали на средах Гисса с различными углеводами.

При определении **радиальной скорости роста** вычисляли увеличение радиуса колонии на плотной питательной среде за определенный промежуток времени. Вычисление радиальной скорости проводили по формуле: $K_r = (r-r_0)/(t-t_0)$, K_r – радиальная скорость роста, r_0 – радиус колоний в начальный момент времени t_0 , r – радиус колоний в начальный момент времени t . Значение K_r определяется для каждой колонии, затем вычисляют среднюю величину $K_{r\text{cp}}$ для всех колоний, выросших при посеве [5].

Результаты и обсуждение. Штаммы характеризуются следующими признаками:

1. Штамм Kd- 4(5), идентифицировано как *Cephalosporium spp.*, выделен из горно-долинных светло-коричневых почв Ат-Башинского района (Нарынская область), на высоте 2700 м н.у.м.

Культуральные признаки: На среде Сабуро: Воздушный мицелий (ВМ) белого цвета; Субстратный мицелий (СМ) – бледно-желтого цвета, поверхность колоний - морщинистый, растворимого пигмента - нет; консистенция войлокообразные. **Морфологические признаки:** конидиеносцы бесцветные, несептированные, ветвистые, конидии в овальной форме.

2. Штамм N4mK7, идентифицирован как *Cladosporium spp.* выделен из светло-коричневых почв в зоне Мин-Кушских урановых хвостохранилищ.

Рост на среде Сабуро: ВМ – светло-серого цвета, морщинистый; СМ – желтоватый, пигмент не выделялся; пушистой консистенции. Конидиеносцы бесцветные, септированные, конидии овальной форме, расположение по одиночно.

3. Штамм T-22, идентифицированный как *Trichoderma viride*. штамм был выделен из почвенных образцов светло-коричневого типа в зоне урановых хвостохранилищ Талды-Булак (пос. Мин-Куш).

Культуральные признаки: ВМ белого цвета; СМ – желтый, пигмент не выделялся; консистенция – ватообразные, морщинистая. Конидиеносцы – синеватые, длинные, септированные, ветвистые, конидии бесцветные, сгруппированные в грозди.

4. Штамм Kd-3(3), идентифицированный как *Cladosporium spp.*, выделен из образцов горно-долинных почв Ат-Башинского района, на высоте 2700 м н.у.м. **Рост на среде Сабуро:** ВМ – грязно-белый; СМ – желтого цвета, пигмент не выделялся; консистенция – войлокообразные; края колонии – морщинистый.

Конидиеносцы бесцветные, одиночные септированные, ветвистые. Форма конидии яйцевидный, расположены по одиночке.

5. Kd-1(6) штамм, идентифицированный как *Paecilomyces spp.*, штамм был выделен из горно-долинных светло-коричневых почв Ат-Башинского района, на высоте 2700 м н.у.м. ВМ на среде Сабуро от белого до синего цвета; СМ – желтый, морщинистый, пигмент не выделялся; консистенция – ватно-бархатистая; край колоний – морщинистый. Конидиеносцы бесцветные, несептированные, ветвистые. Конидии овальной форме, расположены по одиночке.

6. Штамм N1-TB4 идентифицированный как *Penicillium viridicatum*.

На среде Сабуро: ВМ – наблюдается постепенное изменение белого цвета в ярко-зелёные от обильного спороношения, часто с каплями экссудата; СМ, в питательную среду выделялся желтый пигмент; консистенция – войлокообразные; края колонии – морщинистый. На среде Чапека: ВМ – темно-зеленый; СМ – желтого цвета. Конидиеносцы трёхъярусные, шероховатые, с прижатыми элементами. Конидии шаровидные до почти шаровидных, едва шероховатые.

7. Штамм N4-mK7, идентифицировано как *Cladosporium spp.*, выделен из почвенных образцов светло-коричневого типа, в зоне урановых хвостохранилищ Мин-Куш.

На среде Сабуро: ВМ – грязно-белый; СМ – желтого цвета, морщинистый, пигмент не выделялся; консистенция – войлокообразные; края колонии – морщинистый. Конидии овальной форме, бледно-оливкового цвета, расположены по одиночке. Конидиеносцы – бесцветные, септированные, ветвистые.

8. Штамм N3-mK3, идентифицирован как *Paecilomyces spp.* штамм был выделен из образцов почв в зоне урановых хвостохранилищ Мин-Куш, тип почвы: горные светло-коричневые.

На среде Сабуро: ВМ – переход от белого цвета в синий; СМ – коричневый, морщинистый, пигмент не выделялся; консистенция – войлокообразные; края колонии – морщинистый.

Конидиеносцы – бесцветные, септированные, ветвистые. Конидии овальной форме, бесцветные, расположены по одиночке.

9. Штамм N4-mK1, идентифицировано как *Cephalosporium spp.*, выделен из образцов почв в зоне

урановых хвостохранилищ Мин-Куш, тип почвы – светло-коричневый. Рост на среде Сабуро: ВМ – белый; СМ – желтый, пигмент не выделялся; консистенция – войлокообразные; края колонии – мелко-морщинистый. Конидиеносцы бесцветные, несептированные, ветвистые. Конидии овальной форме.

10. Штамм 1-TB3, идентифицированный как *Cladosporium cladosporiadales*, выделен из почвенных образцов светло-коричневого типа, в зоне урановых хвостохранилищ пос. Мин-Куш. В питательной среде Чапека ВМ – обильный, грязно-белый; СМ – желтый, пигмент не выделялся; войлокообразной текстуре; края колонии – мелко-морщинистый. Конидии овальной форме, конидиеносцы – бесцветные, несептированные, ветвистые.

Литература:

1. Герхард Ф. Методы общей микробиологии. Т.1. - М.: Мир, 1983. - 536 с.
2. Горбунова Е.А. Тяжелые металлы как фактор стресса для грибов: проявление их действия на клеточном и организменном уровнях / Е.А. Горбунова, В.А. Терехова. // Микология и фитопатология. - 1995. - Т. 29. - Вып. 4. - С. 63-68.
3. Ившина И.Б. Биоремедиация нарушенных углеводородами и тяжелыми металлами почв с использованием Rhodococcus-биосурфактантов и иммобилизованных родококков. / И.Б. Ившина, А.В. Криворучко, М.С. Кюкина, Л.В. Костина, Т.А. Пешкур, К.Д. Каннингхем // Аграрный вестник Урала. - 2012. - №8 (100). - С. 65-68.
4. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б., Лушников С.В. Прикладная экобиотехнология, учебное пособие. - М.: Изд. БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. - 472 с.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. Пособие / Под редакцией Д.Г. Звягинцева. - М.: МГУ, 1991. - 304 с.
6. Пидопличко Н.М. Грибы - паразиты культурных растений: (Определитель в 3-х т.) Т. 1-2. - Киев «Наукова думка», 1977; Т.1. Грибы совершенные, 1977. - 296 с.; Т.2. Грибы несовершенные. - 1977. - 300с.
7. Illustrated Genera of Imperfect Fungi, H.L. Barnett, Barry V. Hunter, May 1998, 217 p.
8. Бавланкулова К.Д. Микромитеты национального парка Беш-Таш. / Республиканский научно-теоретический журнал «Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана», №7. - Бишкек, 2017. - С. 155-157.

Рецензент: д.пед.н., к.биол.н. Чалданбаева А.К.