DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

НАУКА, НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И ИННОВАЦИИ КЫРГЫЗСТАНА, № 2, 2020

Шералиева Э.К., Бобушова С.Т.

ARTHROBOTRYS OLIGOSPORA КОЗУ КАРЫНЫНЫН ЖЫРТКЫЧТЫК КАСИЕТИН ЛАБОРАТОРИЯЛЫК ШАРТТА НЕМАТОДКО КАРШЫ СЫНОО

Шералиева Э.К., Бобушова С.Т.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ СПОСОБНОСТИ ХИЩНИЧЕСТВА ГРИБА *ARTHROBOTRYS OLIGOSPORA* ПРОТИВ НЕМАТОД

E.K. Sheralieva, S.T. Bobushova

DETERMINATION OF THE ABILITY OF PREVENTION OF THE FUNGUS ARTHROBOTRYS *OLIGOSPORA* AGAINST NEMATODES IN LABORATORY CONDITIONS

УДК: 632.651

Жырткыч козу карындарды Чүй аймагынын Сокулук районуна караштуу Жаңы-Жер айлында өндүрүлгөн компосттон, өсүмдүк калдыгынан жасаган компосттон жана топуракта бөлүнүп алынды. Жырткыч козу карындардын вирүленттүүлүк касиети in vitro шартында бааланды. Жырткыч козу карындардын нематодко каршы активдүүлүгүнө лабораториялык шартта сыноо жүргүзүлдү. Изилдөөнүн натыйжасында үч штамм бөлүнүп алынды, бир штамм жогорку вируленттүүлүк көрсөттү. Изилдөөнүн натыйжасында козу карындын гифтеринин нематодко каршы сезгичтиги аныкталды. Бөлүнгөн козу карындын культуралдык-морфологиялык, биохимиялык касиеттери изилденди жана молекулярдык-генетикалык мүнөздөмө берилди. Изилдөөнүн жыйынтыгында козу карындын гифтеринин нематодко каршы сезгичтиги аныкталды. Кээ бир козу карындын гифтери нематодду 1-2 секундада кармаса, кээ бир түрлөрү бүт нематодду гифинен өткөрүп куйрук бөлүгүн кармаганы аныкталды. Кээ бир учурларда нематода гифтин айланасында 30 минутага чейин айланып андан соң тузакка түшкөндүгү аныкталды.

***Негизги сөздөр**: жабышкак торчолор, аппрессория, жыркыч козу карын, конидиалык капкандар, штамм, нематод.*

Хищные грибы были выделены из компоста произведенного в селе Жаны-Жер Сокулукского района Чуйской области, а также из почвы и остатков растений. Вирулентные свойства хищных грибов, а также их активность против нематод определяли в лабораторных условиях. В результате иследований были выделены три штамма Arthrobotrys oligospora и один штамм отличался повышенной вирулентностью. Определены культурально-морфологические, биохимические свойства и дана молекулярно-генетическая характеристика. Были проведены исследования чувствительности нематод к гифам грибов. Некоторые гифы грибов ловили нематод в течении 1-2 секунды, а некоторые виды пропускали целую нематоду через гифы и ловили их хвостовую часть. В некоторых случаях, нематода попадалась в ловушку в течении 30 минут.

***Ключевые слова:** липкие сети,аппрессория, хищные грибы, конидиальные ловушки, штамм, нематода*

Predatory fungi were isolated from compost produced in the village of Zhany-Zher, Sokuluk district, Chui, also from compost, from soil and plant debris. The virulent properties of predatory fungi and their activity against nematodes were determined in vitro. As a result of the studies, isolated three strains of Arthrobotrys oligospora and one of these identified highly virulent. Determined the cultural-morphological, biochemical properties and molecular genetic characteristics. Studies have been conducted of the sensitivity of nematodes to fungal hyphae. Some fungal hyphae caught nematodes within 1-2 seconds, and some species passed the whole nematode through the hyphae and caught their tail. In some cases, the nematode was trapped for 30 minutes.

***Key words**: sticky nets, apressoris, predatory fungi, conidial traps, strain, nematode.*

Киришүү. 1852-жылы Европада биринчи жолу табылган жана алгачкы жылдары патоген катары эсептелген. 1870-жылы тору бар жана ал вертикалдык капталга өсүүчү атайын структурага ээ болгон гифтери жана илгичтери бар болгондугун изилдеген. Булардын жырткычтык функциясы белгисиз бойдон калган. 1876-жылы жырткычтардын шакекчеси, тору, нематодду кармоого ылайык экендигин, жырткыч козу карын нематодко каршы агрессиясын чыгарган жана жырткыч козу карындын мицелийи нематоду кармоо структурасына ээ жана курмандыгынын кутикуларын тешип кирип мицелийин өстүрүп нематодду сиңирип алган. Нематод өлгөндөн кийин жырткыч козу карындардын конидия алып жүрүүчү конидиялары

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

курмандыгынын азыгынын эсебинен күчтөнөт жана чоңоет деп белгилеген [2]. Козу карын айлана-чөйрөдө кеңири таралганы белгилүү. 120 жылдан ашык *A.oligospora* козу карынын изилдөө анын бир гана биологиялык агент эмес башка касиеттерге ээ экендиги аныкталган. Мисалы *A.oligospora* нематодду өзүнүн немотоксин химиялык заты менен кожоюнду өлүмгө алып келүүсү [3]. *A.oligospora* менен көптөгөн эксперименттерди кылуу анын жырткычтык касиети пайдалуу жана биологиялык контролдо агент катары колдонулары белгилүү.

Материал жана методдор. Нематодду бөлүп алууда Кыргызстандын аймагында кеңири өстүрүлгөн картошка, сарымсак өсүмдүктөрү алынган үлгүлөр изилдөөнүн объектиси болуп саналды. Нематодду бөлүп алууда атайын нематод бөлүүчү аппарат колдонулду. 100 гр изилденүүчү топурак таразага тартылат, атайын сүрөттө көрсөтүлгөндөй чөйчөкчөгө материал фильтр төшөлүп, суу үстүн жапкандай деңгээлде суу куюлат. Бөлмөдө 2 күн кармалгандан кийин нематоддор фильтрден сууга өтүшөт. Андан кийин нематод астынкы суусу менен бөлүп алып атайын майда нематод кармоочу идиштерге куюлат.

1-сүрөт. Нематодду бөлүү ыкмасы.

Нематоддордон препараттарды даярдоо. Нематоддордун морфологиясын жана ички түзүлүшүн изилдөө үчүн убактылуу жана туруктуу препараттар даярдалат Эң оңой бул фиксацияланган нематоддорду аммиактын эритмесинде же 0,01% 30 калий перманганат эритмесинде көрүүгө болот. Топурактан жана өсүмдүктөн бөлүп алынган нематоддор 4-10% формалин менен фиксацияланат.

Жырткыч козу карындарды бөлүү. Жырткыч козу карындарды Чүй аймагынын Сокулук районуна караштуу Жаңы-Жер айлында өндүрүлгөн компосттон, өзүбүз жасаган компосттон, өсүмдүк калдыгынан жана топурактан бөлүп алдык. Изилдөө учурунда жалпы 40 үлгү чогултулуп алынды. Алар азык чөйрөлөргө отургузулуп, карангы жерде, 25˚С температурада 7-15 күнгө чейин кармалды. Өсүп чыккан колониялар андан ары жырткычтык касиетине жараша тандалды.

Жырткыч козу карындардын вирүленттүүлүк касиетин in vitro шартында баалоо. Бул үчүн козу карындын культуралары жүгөрү агар чөйрөсүндө 7 сутка өстүрүлдү. Андан кийин картошкадан жана сарымсактан бөлүнгөн козу карындарды санап (5шт.) козу карын менен бирге предметтик айнекте препарат даярдалды. Препаратты 24,48,72 саат аралыгында жана 5-6 суткадан кийин байкоо жүргүзүлдү. Байкоолорго ылайык кайсыл козу карын нематод менен аракеттенишкенде алгачкы эле саатта өлүмгө учуратса вирүленттүү деп эсептелди.

Жыйынтык. Жырткыч козу карындарды бөлүп алууда топурак, өсүмдүк калдыгы жана компост алынды. Жырткыч козу карындарды жаратылыш булактарынын көп бөлүгүнөн кездештирүүгө болот. Алынып келинген үлгүлөрдү лабораторияда 3 түрдүү ыкма менен Петри чөйчөгүнө отургуздук.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

а *б* *в*

2- сүрөт. *а* – чөйрөнүн бетинде тыйындын өлчөмүндөй үлгүнү сээп өстүрүү; *б* – чөйрө менен бирге нематод кошуп үлгүнү аралаштырып өстүрүү; *в* – үлгүнүн үстүнө нематод кармалган сууну куюп өстүрүү.

2-сүрөттө көрүнүп тургандай, 3 жол менен тен жырткыч козу карындарды өстүрүп алууга болорун байкадык. Изилдөөнүн жыйынтыгында б жана *в* – сүрөттө көрсөтүлгөндөй ыкма жырткыч козу карындарды өстүрүп алуунун натыйжалуу ыкмасы деп айтууга болот.

3-сүрөт. Бөлүнүп алынган жырткыч козу карындардын алгачкы культуралары.

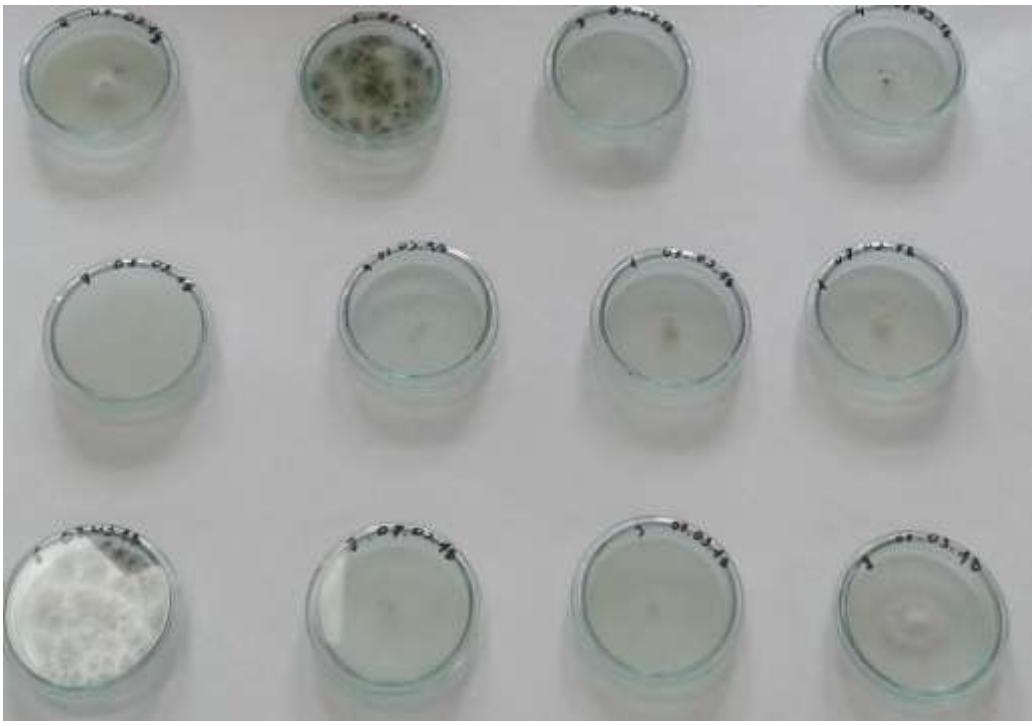
Изилденип жаткан козу карын кайсы чөйрөдө жогорку биомассага ээ болушу тууралуу курамы ар түрдүү чөйрөдө өстүрдүк. Жыйынтыгында жүгөрү агарында споралардын саны көп болоору, ал эми картошка пептон агарында биомасса жогору болору аныкталды.

4-сүрөт. Жүгөрү агар чөйрөсүндө өскөн козу карындын таза культурасы жана х40 объективдеги микроскоптон көрүнүшү.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

4-сүрөттө көрсөтүлгөндөй козу карын жүгөрү агар чөйрөсүндө Петри чашканын бетин каптап ак бубак баскан мицелийлерин пайда кылган. Өсүүсү 7-14 күн аралыгында байкалган. Кийинки изилдөөлөрдө бөлүнгөн штаммдардын чындыгында нематофагдык касиетке ээ жана канчалык вирүленттүү экендигин аныктоо максатында биринчилик тесттен өткөрдүк.

Козу карындардын жырткычтык касиетин in vitro шартында баалоо. Бул үчүн Петри чөйчөктөрүндө өстүрүлгөн козу карындардын колонияларынан препарат даярдалып, мицелий менен нематоддун аракетин байкоо максатында 3-5 шт. нематод салынып, күн сайын микроскоп алдында байкоо жүргүздүк.



5-сүрөт. Жырткыч козу карындардын нематод менен бирге салынган культуралары.

Жырткыч козу карындын нематтодду кармоосу боюнча сыноо бөлмө температурасына коюлду, күнүгө х10 объективдеги микроскоптон көрүнүшү каралды. Канча саатта кандай өзгөрүүлөр болуп жаткандыгы каралып жатты. Микроскоп алдындагы сүрөттөрдөн шакекчелерди, торчолорду көп пайда кылгандарды жогорку вирүленттүү деп санадык. Адабияттардагы кармоочу торчолордун структурасы төмөндөгүдөй берилген.

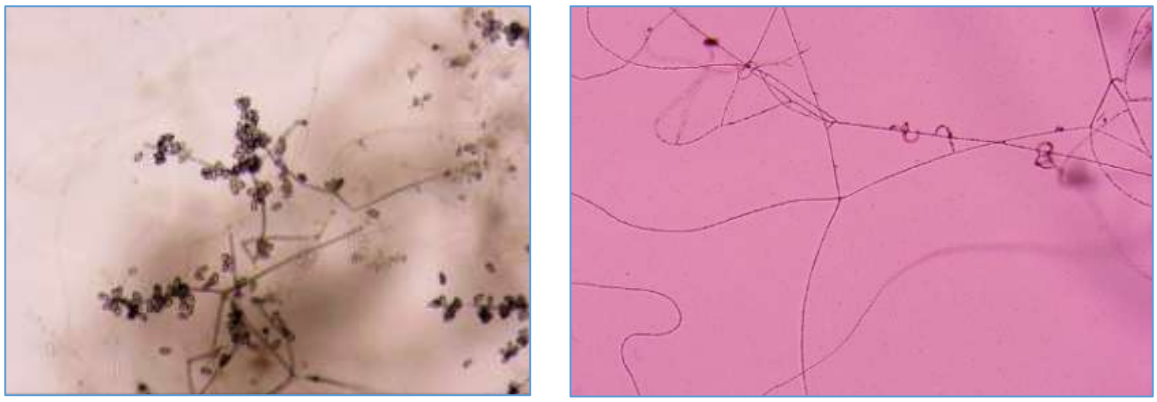
Адгезия торчосу. Кенири таралган нематода кармагыч капкандын бири-уч катмардуу жабышуучу торчо. Булардын торчосу каптал бутактан чыгат жана оор, кырдуу торчону пайда кылат. *Arthrobotrys oligospora, Arthrobotrys conoides, Arthrobotrys musiformis*.

Адгезиялдык гифалдык бутак. Адгезиялык гифалдык бутак гифтердин капталынан узартылган клетканы түзөт. Качан адгезия бутагы тенденцияны түзгөндө алар эки катмарлуу торчо деп аталат. Бутак гифтерди түзүү жөндөмдүүлүгү бул жөнөкөй клей бутактарды колдонот.

Чоюлбаган шакекче. Вертикалдык каптал бутактардын биригүүсү үч катмардуу шакекче пайда кылуу үчүн кийин сабакка биригип кетет.

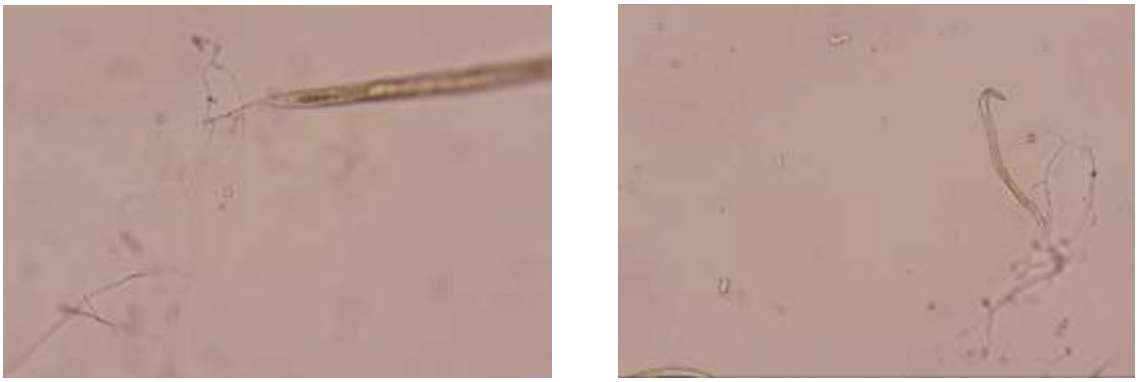
Чоюлган шакекче. Кургатуучу шакекче качан нематода кургатуучу шакекчеге киргенде нематодду 1-2 секундада өлүмгө алып келет [5].

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



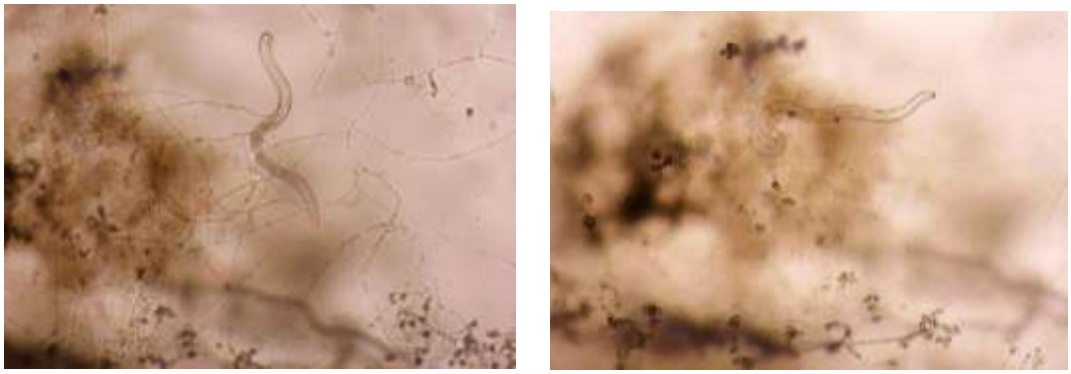
6-сүрөт. 24 сааттык козу карындын культурасы жана нематоддун х10объективдеги микроскоптон көрүнүшүю

Адабияттарда жазылгандай *A.oligospora* нематод бар чөйрөдө өзүнүн таасирин көргөзүп баштайт. Сүрөттө көрүнүп тургандай *Artrobotrys oligospora* 48-сааттын ичинде шакекчелерди пайда кылып жана мицелийлери чоңойгону байкалган.



7-сүрөт. Жырткыч козу карынын нематодду шакекчелеринин жардамы менен кармашы.

7-сүрөттө көрүнүп тургандай *Arthrobotrys oligospora* козу карындары менен нематтоддун аракеттенишинен 48-72 сааттан кийин нематоддун кыймылсыз абалга келгени байкалды. Бул козу карындар микроскоп алдында нематоддор канчалык активдүү кыймылдаган сайын ошончолук илешкектүүлүгү жогорулап жатты, б.а. адабияттарда айтылгандай нематод козу карынды дүүлүктүрүп, тузакка түшүрүүчү түзүлүшүн колдонду деп айтууга болот.



8-сүрөт. *Artrobotrys oligospora* козу карынынын нематодду өлүмгө учураткан көрүнүшү.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

8-сүрөттө көрүнүп тургандай, алгач нематод козу карындын мицелийи менен чырмалганын байкоого болот. Мицелийге оролгон нематод активдүү кыймылдап чыгууга аракеттенген сайын козу карындын жабышкак түзүлүшү функциясын активдештирери айтылат. 48-72 саатта нематоддун активдүүлүгү абдан азайганын байкоого болот. Ал мицелийден бошонгон мезгилде да денесине жабышкан мицелийдин бөлүгү, аноморфдуу, б.а кайрадан өсүүгө жөндөмдүү мицелийди пайда кылат. Кийинки сүрөттө микроскоп алдынан караганыбызда нематоддун денесинин ээрип жатканын байкоого болот. Адабияттарда берилгендей козу карынын нематодду кармоочу уникалдуу жөндөмдүүлүгү козу карындын жаш өзгөчөлүгүнөн көз каранды. Ушул кубулушту биздин изилдөөдөн байкадык, анткени козу карындын денеси саат сайын өскөн сайын адгезиялык касиети ошончолук жогору болду [6] ушул мезгилде фибриллдер нык болот жана бир багытты б.а. курмандыгына карата чабуул коет.

Корутунду. *A.oligospora* жырткыч козу карынын жырткычтык касиети белгилүү болгон *Arthrobotrys oligospora* качан кожоюну менен контакт болгондо гана активдүүлүгү күчөтөт. Биологиялык коргоодо жогорку эффективдүү экендиги маалым. Алынган жыйынтыктар боюнча караганда нематод менен күрөшүүдө жырткыч козу карын эффективдүү болгону белгилүү [7]. Жырткыч козу карындар топуракта жана калдыкта кездешет. Лабораториялык жана табигый шарттарда өсүүгө ыңгайланышкан. Гифтеринин өсүүсү менен кармоочу капкандарынын өнүгүүсү узак процесс болуп саналат [8]. Изилдөөнүн натыйжасында козу карындын гифтеринин нематодко каршы сезгичтиги аныкталды. Кээ бир козу карындын гифтери нематодду 1-2 секундада кармаса, кээ бир түрлөрү бүт нематодду гифинен өткөрүп куйрук бөлүгүн кармаган. Кээ бир учурларда нематода гифтин айланасында 30 минутага чейин айланып андан соң тузакка түшкөн [9].

Адабияттар:

1. Niu, Xue-Mei Zhang, Ke-Qin «"Artrobotrys oligospora: a model organism for understanding the interaction between fungi andnematodes",» pp. 59-78, 16 Mart 2011.
2. Zorf Z. «Taxonomy and Phylogeny of NematodeTrappıng Fungi,» pp.2-3.
3. Giuma A.Y., Hackett A.M. R.c/Cooke, «Thermostable nematotoxins produced by germinating conidia of some endozoic fungi» Author links open overlay panel». - PP. 49-56, February 1973.
4. Kumar J.D. «Screening of Different Media and Substrates» 2005.
5. Sjollema J.A. Marten, «Competitive interactions between two nematophagous fungi during infection and digestion of the nematode Panagrellus redivivus», 1994.
6. Niu, Xue-Mei Zhang, Ke-Qin «*Arthrobotrys oligopspora* a model organism for understanding the interaction between fungi and nematodes» 58-82 Mart 2011.
7. Springer, Heidelberg, Germany Editors: Kubicek C., Druzhinina ICasas-Flores, «Antogonism of Plant Parasitik Nematodes by Fungi". - PP. 43-66
8. Tunlid A., Johansson T. Nordbring-Hertz B.E. den Belder «Adhesive hyphae of Arthrobotrys oligospora: an ultrastructural study,» *EuropeanJournal of Plant Patholog*, 1 Februar 1996.
9. Джунусов К.К. Фитонематоды картофеля и меры по снижению их вредоносности в условиях Чуйской долины. / Журнал «Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана». - 2015. - №4. - С. 145-146.