DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

Молдакунова Ж.К., Шекеков А.Ш.

ТРИХОДЕРМИН БИОПРЕПАРАТЫН АЛУУ ҮЧҮН *TRICHODERMA LIGNORUM* КОЗУ КАРЫНЫН ӨСТҮРҮҮ БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ

Молдакунова Ж.К., Шекеков А.Ш.

БИОТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБА *TRICHODERMA LIGNORUM* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА ТРИХОДЕРМИНА

J. Moldakunova, A. Shekekov

BIOTECHNOLOGY OF CULTIVATION OF THE FUNGUS *TRICHODERMA LIGNORUM* FOR THE PRODUCTION OF BIOIOGICAL PREPARATIONS OF TRICHODERMIN

УДК: 574.4.632.651

Trichoderma тукумундагы Trichoderma lignorum козу карынын өстүрүү ар түрдүү азык чөйрөлөрдө жүргүзүлдү. Trichoderma lignorum энелик культурасы кайсы чөйрөдө, продуктивдүү өсөөрүн аныктоо үчүн сусло азык чөйрөнүн 2 түрү тандалып алынды. Trichoderma lignorum козу карынын өсүү процессинде азык чөйрөгө арпанын ширесин кошуу менен өстүргөндө жыйынтыгы натыйжалуу болду. Азык чөйрөгө картофелдин сорпосун кошуу менен өстүргөндө, жакшы өскөндүгү байкалды. Жыйынтыктап айтканда, азык чөйрөгө арпанын ширеси менен картофель сорпосун кошуп өстүргөндө, козу карындын өсүмү эффективдүү болорун, башкача айтканда продуценттен активдүү биомассаны көп алууга мүмкүн экендиги аныкталды.

***Негизги сөздөр:** козу карын, өстүрүү биотехнологиясы, сусло азык чөйрөсү, арпанын ширеси, картофелдин сорпосу, продуцент, биопрепарат, триходермин.*

Была произведена оптимизация биотехнологии культивирования продуцента гриба Trichoderma lignorum в различных питательных средах для получения биопрепарата триходермина. Подобраны 2 вида питательных сред для более эффективного роста продуцента, в которых лучше росли культуры завязи триходермы. Эффективность роста Trichoderma lignorum была значительно выше при выращивании продуцента путем добавления в сусло ячменного настоя. При выращивании триходермы добавлением в питательную среду бульона из картофеля рост конидий гриба триходермы была выше, чем в контрольной. Таким образом установлено, что продуктивность продуцента триходермы значительно возрастает при выращивании Trichoderma lignorum в питательных средах с добавлением ячменного настоя и картофельного бульона.

***Ключевые слова:** гриб, биотехнология культивирования, сусло, питательная среда, ячменный настой, картофельный бульон, маточная культура, продуцент, биопрепарат.*

The biotechnology of cultivation of the producer of the fungus Trichoderma lignorum in various nutrient media for the production of active biomass was optimized. 2 types of nutrient media have been selected for a more effective medium, the producer of which is better than the culture of the ovary of the tyrrhoderm. The growth efficiency of Trichoderma lignorum was significantly higher when growing the producer by adding barley infusion to the wort. When growing trichoderma by adding potato broth to the nutrient medium, the growth of trichoderma mushroom conidia was higher than in the control. Thus, it was found that the productivity of the trichoderma producer increases significantly when growing Trichoderma lignorum in nutrient media with the addition of barley infusion and potato broth.

***Key words:** mushrooms, cultivation biotechnology, wort, nutrient medium, barley infusion, potato broth, producer, biopreparation, trichodermin.*

Соңку жылдары адам баласынын тиричилигинде, айыл чарбасында, өнөр жайда козу карындар кеңири колдонулуп келет. Козу карын ферменттери кеңири изилденип, жаңы продуценттер ачылып, ферменттердин жаңы касиеттери белгилүү болууда. Алсак *Trichoderma* тукумундагы козу карындар азыркы учурда айыл чарба өсүмдүктөрүнүн ар түрдүү илдеттерине каршы кеңири пайдаланылат [1, 12, 13,14].

Trichoderma тукумундагы козу карындардан алынган – триходермин активдүү илдет козгоочу микроорганизмдерге күчтүү каршылык көрсөтүүчү биопрепарат болуп эсептелинет [3,9,11].

Триходермин алыскы жана жакынкы чет өлкөлөрдө сыноодон өткөн биопрепарат. Илимий изилдөөлөрдүн жана өндүрүштүк тажрыйбалардын негизинде, айыл чарба өсүмдүктөрүндө кездешкен ар кандай тамыр чирик илдеттерине каршы триходерминдин жогорку натыйжалуулугу аныкталып, жашылча өсүмдүктөрүнүн, кант кызылчанын, гүлдөрдүн тамыр чириктерине, картошканын, жана томаттын фитофтрозуна жана макроспориозуна ошондой эле мөмөлүү бак дарактардын котур кара так илдеттерине каршы колдонула тургандыгы жана ошол эле учурда өсүмдүктөрдү тез өстүрүүчү, бат жетилтүүчү биостимулятордук касиеттерге ээ экендиги да далилденди [5,6,7,10].

Алсак *Trichoderma lignorum* козу карыны түрдүү метоболиттерди: өсүү гормондорду (ауксиндерди, цитокинин) органикалык кислоталарды, жана табигый 100дөн ашык антибиотиктерди иштеп чыгарат. Өсүмдүктөрдүн физиологиялык процесстерин стимулдаштыруучу триходерманын фитогормону (цитокининдер) өсүмдүк организимине кирип, анын активдүү өсүшүнө жардам берет [4,8].

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

Иштин максаты: *Trichoderma lignorum* козу карынын продуцент катары көп активдүү биомасса өндүрүү үчүн (биопрепарат триходермин алуу үчүн), түрдүү азык чөйрөлөрдө өстүрүү процессин оптималдаштыруу, азык чөйрөнүн кошулмаларын өзгөртүү менен *Trichoderma lignorum* козу карынынын энелик материалын өсүү эффективдүүлүгүн арттыруу.

Иштин милдеттери:

- азык чөйрөлөрдү тандоо жана жасоо;
- тандалып алынган азык чөйрөлөгө *Trichoderma lignorum* штаммын отургузуу;
- *Trichoderma lignorum* козу карынынын өсүүсүнүн эффективдүүлүгүн байкоо жана спораларынын титрин аныктоо;

Изилдөөлөрдүн жүргүзүлгөн шарты, материалдар жана методдор:

Изилдөөлөр 2020-2021-жылдары Кыргыз Республикасынын айыл чарба Министрлигинин «Органикалык айыл чарба департаментинин» эксперименталдык агробиофабрикасында жүргүзүлдү.

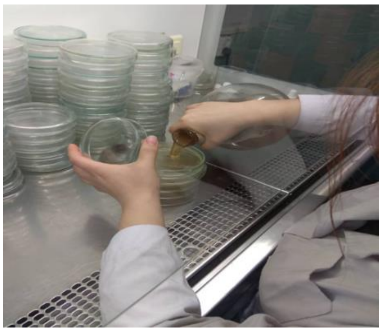
Иштин жыйынтыгы. Изилдөө объекти катары триходерма тукумуна кирген *Trichoderma lignorum* козу карынынын штаммы колдонулду.

Trichoderma lignorum козу карынын өстүрүү катуу азык чөйрөнүн үстү катмарында өстүрүү методу менен жүргүзүлдү [3,9].

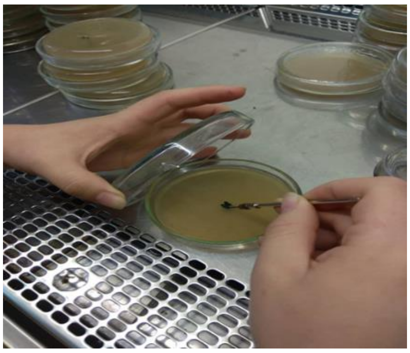
Алгач *Trichoderma lignorum* жакшы өнүккөн ак түстөгү мицелий козу карынчаны, андан кийин убакыттын өтүшү менен бара-бара кочкул жашыл түстөгү козу карынды пайда кылат. *Trichoderma lignorum* козу карыны споралары конидиялары аркылуу көбөйөт [10].

Контроль азык чөйрө катары кеңири колдонуучу ачытылбаган сыранын суслосу пайдаланылды. Алдын ала стерилдештирилип, чыпкадан (фильтрден) өткөрүлгөн сусло 1:1 катнашта дистирленген суу менен аралаштырылып, рН-5,6-6,0 жеткирилди. Даярдалган 1 литр азык чөйрөнү колбага куюп, агар-агардан 30 грамм, глюкозадан 30 грамм кошуп, колбанын оозун пахта тыгыны (пробка) менен бекитилип, 115◦С температурада 0,5 атм. басымда 40 мүнөт автоклавта стерилизациядан өткөрүлдү. Стерилденген азык чөйрө бокска жайгаштырылып, алдын ала стерилденген Петри чөйчөкчөлөрүнө куюлду (1-сүрөт).

Азык чөйрө каткандан кийин ага себилүүчү энелик материал Казакстандын өсүмдүктөрдү коргоо илимий-изилдөө институтунда алынган [15] *Trichoderma lignorum* козу карындын (Казакстан 256) штаммы отургузулду (2-сүрөт). Андан соң 7 күнгө 26-28°С температурада термостатка жайгаштырылып өстүрүлдү.



1-сүрөт. Азык чөйрөнү Петри чөйчөкчөлөрүнө куюштуруу

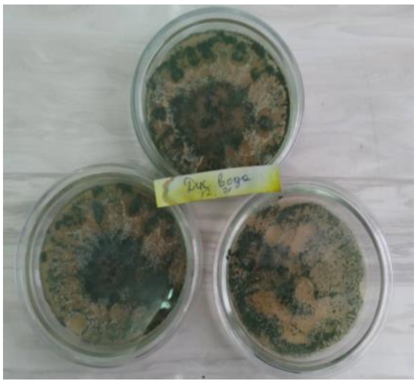


2-сүрөт. Энелик материалды отургузуу.

Отургузуу жүргүзүлгөн күндөн баштап, козу карындын өсүү процессине байкоо жүргүзүп турдук. Контроль азык чөйрөдө өскөн триходерманын споралары аз болуп, ачык жашыл түстөгү козу карын мицелийлердин өсүшү төмөн болду (3-сүрөт). *Trichoderma lignorum* козу карындын диффузиялык пигменти кочкул жашыл болгондуктан, бул азык чөйрөдө өскөн козу карындардын толук кандуу өсүү эффективдүүлүгүн көрө алган жокбуз (4-сүрөт).

3-сүрөт. 1-3 күн аралыгында *Trichoderma lignorum* козу карындын өсүшү.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



4-сүрөт. 4-7 күн аралыгында
Trichoderma lignorum козу карындын өсүшү.

Экспериментте азык чөйрөнүн 2 варианттын колдондук.

Биринчи вариант. Контролдук азык чөйрөдөн айырмаланып дистирленген суунун ордуна картофель сорпосу кошулду. Картофель сорпосун даярдоо үчүн орто өлчөмдөгү 5 даана картофелдин кабыгын тазалап алып, идишке 1 литр өлчөмдөгү суу куюп, картофель жумшак болгончо кайнаттык. Андан кийин картофелдин сорпосун чыпкадан өткөрүп, 0,5 мл өлчөмдө алып, азык чөйрөгө коштук. Колбага даярдалган азык чөйрөнү 115°С температурада 0,5 атм. басымда 40 мүнөт автоклавта стерилизациядан өткөрдүк. Азык чөйрө каткандан кийин *Trichoderma lignorum* козу карындын (Казакстан 256) штаммын отургуздук. Андан соң 7 күнгө 26-28°С температурада термостатка жайгаштырып өстүрдүк.

Отургузуу жүргүзүлгөн күндөн баштап козу карындын өсүү процессине байкоо жүргүзүп турдук. Өсүү процесси башталганда, адегенде түссүз ак кебез сыяктуу мицелий пайда болуп, убакттын өтүшү менен споралардан жашыл түстөгү конидиялар өсүп чыкты (5-сүрөт). *Trichoderma* козу карындын микромицетинин споралары орто жыштыкта болуп 1-3 күн аралыгында өсүү темпи жай жүрүп, ал эми 4-7 күндөрү өсүү ылдамдыгы интенсивдүү жүрүп, триходерма кеңири жайылып өстү (6-сүрөт).

5-сүрөт. 1-3 күн аралыгында
Trichoderma lignorum козу карындын өсүшү.

6-сүрөт. 4-7 күн аралыгында
Trichoderma lignorum козу карындын өсүшү.

Экинчи вариант: Жогоруда жасалган азык чөйрөдөн айырмаланып, картофель сорпосунун ордуна арпа ширеси кошулду. Арпа ширесин даярдоо үчүн идишке 1 кг арпаны салып, 1,5 литр өлөчөмдөгү сууну куюп, 17 саат чыланып тургандан кийин арпанын ширесин чыпкадан өткөрүп, 0,5 мл өлчөмдү даярдалып жаткан азык чөйрөгө коштук. Колбага даярдалган азык чөйрөнү 115°С температурада 0,5 атм. Басымда 40 мүнөт автоклавта стерилизациядан өткөрдүк. Азык чөйрө каткандан кийин *Trichoderma lignorum* козу карындын (Казакстан 256) штаммын отургуздук. Андан соң 7 күнгө 26-28°С температурада термостатка жайгаштырып өстүрдүк.

Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжасында арпа ширеси колдонулган экинчи азык чөйрөдө *Trichoderma lignorum* штамм культурасынан көп массадагы споралар алынды. Өсүү процессинин алгач 1-3-күндөрүндө *Trichoderma lignorum* козу карындын өсүшү интенсивдүү болуп өскөндүгүн байкадык (7-сүрөт). Бул ыкмада *Trichoderma lignorum* штаммынын споралары жыш жайгашып кочкул жашыл түстөгү триходерма фунгицити кеңири жайылып өскөндүгү байкалды. Арпа ширеси козу карындардын өсүшү үчүн эң натыйжалуу субстрат болуп, 1-7 күн аралыгында спораларды интенсивдүү пайда кылды (8-сүрөт).

7-сүрөт. 1-3 күн аралыгында
Trichoderma lignorum козу карындын өсүшү.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

8-сүрөт. 4-7 күн аралыгында *Trichoderma lignorum* козукарындын өсүшү.

Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн жыйынтыгында, курамы өзгөртүлгөн азык чөйрөлөрдө өскөн *Trichoderma lignorum* козу карын штаммынын спораларынын санын титрлеп микроскоптон Горяева камерасы аркылуу санап, салыштыруу жүргүздүк (1-таблица). Титр аныктоо формуласын колдондук.

$T = 25 * a * 10^4 * 10^x$ Т – титр;

а – квадраттагы спораладын орточо саны;

10^x- туруктуу сан, суюлтуунун санына жараша;

Эң көп спораладын саны $6 * 10^9$ КОЕ/мл менен аныкталат [9]. Азык чөйрөлөрдө өскөн *Trichoderma lignorum* штаммынын спораларынын саны.

Таблица 1

	Контроль	1-вариант	2-вариант
Споралардын орточо саны (а)	13,5	26.8	40
Споралардын саны	3 млрд 375млн	6 млрд 700 млн	10 млрд

Изилдөөлөрдүн негизинде триходермин биопрепаратын өндүрүүдө колдонулуучу *Trichoderma lignorum* козу карынын Казакстан 256 штаммын лабораториялык шартта өстүрүү биотехнологиясында арпанын ширесин жана картофель сорпосун колдонуу, жакшы жыйынтыктарды берери, триходерманын өсүү ылдамдыгы эффективдүү жүрөөрү, бул азык чөйрөлөрдө *Trichoderma lignorum* продуцент катары активдүү биомассаны 2-3 эсе көп пайда кылары аныкталды.

Корутунду.

1. Эксперименталдык изилдөөлөрдүн негизинде, ачытылбаган сыранын суслосуна, агар-агар, глюкоза жана арпа ширеси кошулган азык чөйрөдө *Trichoderma lignorum* козу карындын Казакстан 256 штаммынын өсүү эффективдүүлүгү, контролго салыштырмалуу 3 эсе жогору болору аныкталды (спораладын саны 10 млрд, спораладын орточо саны 40 экендиги байкалды); контроль азык чөйрөдө - спораладын саны 3 млрд, спораладын орточо саны - 13,5 болду.

2. Ачытылбаган сыранын суслосуна, агар-агар, глюкоза жана картофель сорпосу кошулган азык чөйрөдө *Trichoderma lignorum* козу карындын Казакстан 256 штамынын өсүү эффективдүүлүгү, контролго караганда 2 эсе жогору болору аныкталды (спораладын саны 6млрд, спораладын орточо саны 26,8 экендиги белгилүү болду); контроль азык чөйрөдө – спораладын саны 3 млрд, спораладын орточо саны – 13,5 болду.

Адабияттар:

1. Алимова Ф. К. Некоторые вопросы применения препаратов на основе грибов рода Trichoderma в сельском хозяйстве. - Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, 2006. 4 с.
2. Алимова Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*: учеб пособие / Ф.К. Алимова, Д.И. Тазетдинова, Р.И. Тухбатова. - Казань, 2007. - 234 с.
3. Войтка Д.В. Повышение активности биопрепаратов на основе грибов-антогонистов *Trichoderma spp* // Современная микология в России. Т.2. Тезисы докладов II сьезда микологов Росии. Нац. акад. микологии, 2008. - 528 с.
4. Гайда А.В. Выделение и сравнительная характеристика сериновых протеиназ микроскопических грибов *Trichoderma lignorum* и *Trihoderma koningii* / А.В.Гайда, Г.Н.Руденская, В.М. Степанов / Биохимия. - 1981. - Т.46, вып. 11.
5. Голованова Т.И., Громовых Т.И., Гугасян В.М., Тимонина Т.В., Юева Е.А. Триходерма как регулятор ростовых процессов. Деп. ВИНИТИ №502 В-96. - 14 с.
6. Громовых Т.И. Новые аборигенные штаммы грибов рода *Trichoderma*, распространенные на территории Средней Сибири / Т.И. Громовых, С.В. Прудникова, В.С. Громовых / Микология и фитопатология. - 2010. - Т. 35. - 56-61 с.
7. Горшина Е.С. Глубиное культивирования грибов рода *Trametes Fr.* с целью получения биологически активной биомассы. - М., 2003. Автореферат канд. диссертации.
8. Долинская Е.В. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на физиолого-биохимические процессы растений пшеницы. - Красноярск, 2011
9. Зиганшин Д.Д, Сироткин А.С. Особенности глубинного и поверхностного культтивирования грибов *Trichoderma для получения* биопрепаратов на основе клеток гриба. / Вестник Казанского технологического Университета, 2017.
10. Матчанова Д.Ш. Микроскопические грибы рода *Trichoderma* – продуценты биологичкски активных веществ / Д.Ш. Матчанова. - Текст: непосредственный / Молодой ученый. -2017.- №3 (137). - С. 230-233.
11. Махова Е.Г. Культивирование грибов рода *Trichoderma* лигноуглеводных субстратах и получение биопрепарата автореф. дисс. к.т.н. / Е.Г.Махова. - Красноярск, 2003.-21с.
12. Садыкова В.С. Экология грибов рода *Trichoderma* басейна реки Енисей, их биологические свойства и практическое использование. Автореф. дисс. д.б.н. - М. 2012.
13. Садыкова В.С. Лихачев А.Н. Кураков А.В. Грибы роды *Trichoderma* Средней Сибири: видовой состав и использование в биотехнологии. / Материалы Всероссийский с международным участием конф. - Екатеринбург, 2015.
14. Садыкова В.С., Кураков А.В., Куварина А.Е., Рогожин Е.А. Антимиробная активность штаммов грибов рода *Trichoderma* из Средней Сибири// Прикладная биохимия и микробиология. - 2015. - Т.51. - №13.
15. Сейтеков Г.Ш. Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике. Из-во «Наука», 1982. Алма-Ата, 1982.