

МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ

Д. 03.05.277

На правах рукописи

УДК 579:873.71.063

ТОТУБАЕВА НУРЗАТ ЭРМЕКОВНА

**НОВЫЕ ШТАММЫ STREPTOMYCES – АНТАГОНИСТЫ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЕЛИ ШРЕНКА**

03.00.16 - Экология

03.00.07 – Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Б И Ш К Е К – 2005

Работа выполнена в лаборатории гельминтологии и экологии микроорганизмов Биолого-почвенного института НАН КР

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Т.Д. Доолоткельдиева

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор А.Т. Канаев
кандидат биологических наук,
доцент Т.А. Токтосунов

Ведущая организация: кафедра биоразнообразия Института экологии и природопользования при КГПУ им. И. Арабаева

Защита состоится 30 июня 2005 года в 14⁰⁰ часов на заседании межведомственного диссертационного совета Д 03.05.277 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук при Биолого-почвенном институте НАН КР (соучредитель: ОшТУ МО КР) по адресу: 720071 г.Бишкек, проспект Чуй, 265.

С диссертацией можно ознакомиться в центральной научной библиотеке НАН Кыргызской Республики.

Автореферат разослан 28 мая 2005 года

**Ученый секретарь
межведомственного
диссертационного совета
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник**

 К.Т. Шалпыков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Вредители и болезни лесных культур наносят огромный ущерб лесному хозяйству республики. Так, огромные площади лесов высыхают от вредной деятельности различных болезней и вредителей, что приводит к сокращению площадей, покрытых лесом.

Проводимые в настоящее время защитные мероприятия от вредителей и болезней включает в себя механические методы, а также применение химических препаратов – инсектицидов, фунгицидов и акарицидов. Однако, химические препараты вредно действуют не только на фитопаразитов, но и на высших растений и микрофлору почвы. И в последнее время внимание исследователей привлекает использование для борьбы с некоторыми болезнями растений антибиотических веществ, имеющих ряд преимуществ по сравнению с химическими. Антибиотики обладают селективным действием – подавляют только фитопатогены, а на растительный организм не влияют или даже в некоторых случаях оказывают рост стимулирующий эффект.

Важное значение в фитопатологии принадлежит группе антибиотических веществ, получаемых из представителей рода *Streptomyces*, особенно при защите хвойных пород, это обусловлено тем, что хвойные растения более чувствительны к фунгицидам, чем большинство других сельскохозяйственных и древесно-кустарниковых пород.

Во многих странах мира на основе штаммов рода *Streptomyces* выпускают активные препараты против болезней сельхозрастений, а также против болезней древесно-кустарниковых пород – например, против ржавчины сосны, вильта дуба, цитоспороза персика и сливы, мучнистой росы и других болезней леса.

В условиях Кыргызстана проблема использования метаболитов *Streptomyces* в защите лесных культур от вредителей и болезней остается почти неизученной.

В связи с этим, несомненно, актуальным остается целенаправленный поиск, выделение и отбор штаммов рода *Streptomyces*, продуцирующих антибиотики и другие биологически активные вещества с множественным проявлением активности в отношении фитопатогенов и растений.

Связь темы диссертации с научными программами. Работа является одним из разделов научного исследования по изучению микробиологического разнообразия высокогорных экосистем Кыргызстана и биотехнологического потенциала полезных видов микроорганизмов, проводимого сотрудниками группы микробиологии лаборатории гельминтологии Биолого-почвенного института НАН КР.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является изыскание высокоактивных культур *Streptomyces*, обладающих сильным антибиотическим действием в отношении возбудителей грибных болезней ели Шренка и ростстимуляцией их всходов.

Исходя из этого, перед исследованием ставятся следующие задачи:

1. Поиск и выделение штаммов рода *Streptomyces* из почвенных экосистем Кыргызстана
2. Изучение морфологических, физиологических и биохимических свойств выделенных штаммов и их идентификация.
3. Определение в лабораторных и полупроизводственных условиях биологическую активность выделенных штаммов на фитопатогенные грибы, отбор высоковирулентных, установление летальной дозы и спектр их действия.
4. Оптимизация состава питательных сред и технических условий для длительного поддержания отобранных штаммов *Streptomyces* в лабораторной и рабочей коллекции.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование почвенных образцов, почти всех регионов республики Жалалабатской, Иссыккульской, Чуйской областей, как естественных источников выделения штаммов рода *Streptomyces* – продуцентов биологически активных веществ.

Проведено лесопатологическое обследование лесных питомников и выявлены наиболее вредоносные возбудители болезней всходов и семян ели Шренка, наносящих ощутимый ущерб лесному хозяйству республики.

Выявлены местные штаммы рода *Streptomyces* обладающие избирательным антибиотическим действием против возбудителей болезней ели Шренка. Установлен спектр действия и летальные дозы испытанных штаммов для каждого вида фитопатогенного гриба (*Fusarium*, *Alternaria*, *Hypodermella sulsigena* Tub., *Sclerotinia graminearum* Elen.).

Установлены оптимальные концентрации лабораторных образцов биопрепаратов *Streptomyces* для стимулирования роста всходов и семян, для повышения их иммунитета к возбудителям грибных болезней хвойных пород.

Подобраны оптимальные составы питательных сред для длительного поддержания биологической активности природных штаммов в лабораторных условиях.

В результате исследований отобраны высокоактивные штаммы рода *Streptomyces* – антагонисты возбудителей болезней ели Шренка (Патент №575) и стимуляторы роста семян хвойных пород и сельскохозяйственных растений (Патент №651).

Практическая значимость работы. На основе проведенных исследований получены новые данные об экологии и распространении актиномицетов рода *Streptomyces* в различных типах почв Кыргызстана, создана коллекция штаммов обладающих антибиотическим и рост стимулирующим действием.

В результате лабораторных и полупроизводственных испытаний отобраны высокоактивные штаммы и рекомендованы для производства актиномицетных препаратов, предназначенных против возбудителей болезней ели Шренка и стимуляции их роста.

Штамм *S. bambergiensis* K1-3 как продуцент биологически активного вещества подавляющего развитие фитопатогенного гриба из рода *Alternaria* рекомендован для защиты семян ели Шренка от инфекционного полегания. Штамм *S. fragilis* B1-18 как продуцент биологически активного вещества стимулирующего рост всходов и семян ели Шренка рекомендован для стимуляции роста семян.

Основные положения выносимые на защиту:

- целесообразность изыскания штаммов рода *Streptomyces* и их использования в защите всходов и семян ели Шренка от грибных болезней, как экологически безопасные средства;
- экология, распространение, морфо - физиологические и биохимические особенности штаммов рода *Streptomyces* ;
- биотехнологический потенциал и практическое значение полученных штаммов как продуцентов антибиотических и ростстимулирующих веществ для защиты растений от болезней.

Личный вклад соискателя. Исследования по изысканию штаммов рода *Streptomyces* и их использованию в защите всходов и семян ели Шренка от грибных болезней проведены соискателем лично.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на Международной научно-практической конференции: «Непрерывное образование в новом информационном пространстве», Бишкек, 2001; на Международной научно-практической конференции посвященной 50-летию КГПУ им. И. Арабаева: «Экологическая безопасность в Кыргызстане», Бишкек, 2001; на Международной научно-практической конференции посвященной «Году гор» и 50-летию КГПУ им. И. Арабаева: «Экологическая безопасность горной страны и новые информационные технологии в образовании», Бишкек, 2002, на Международной научно-практической конференции «Биотехнология – современное состояние и перспективы», Москва 10-14 ноября 2003, 1st International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicro World-2005) Badajoz (Spain), March 15-18th 2005.

Публикации. По результатам исследования опубликованы 12 научных статей и получены два патента

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 195 страницах машинописного текста, состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений, содержит 26 таблиц и 63 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

РАЗВИТИЕ УЧЕНИЯ О МИКРОБНОМ АНТАГОНИЗМЕ

Приводятся сведения о возникновении и развитии науки о микробном антагонизме, первых шагах практического использования микроорганизмов в борьбе с болезнями сельскохозяйственных и древесно-кустарниковых пород. Отмечается расширение сферы применения актиномицетов из рода *Streptomyces* за последние годы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения экологии и распространенности стрептомицетов - антагонистов в природных экосистемах анализировались почвенные образцы из различных типов почв. Были анализированы 112 почвенных образцов. Микробиологический анализ почвенных образцов проводили согласно методам Д.Г. Звягинцева (1997 г.).

Выделен 331 штамм актиномицетов рода *Streptomyces*, из которых у 22 штаммов изучены морфологические, биохимические, антагонистические свойства.

Идентификацию выделенных штаммов проводили по определителям Г.Ф. Гаузе с соавт., Ваксмана, Ширлинга и Готтлиба, Красильникова. Цвет мицелия определялся по шкалам цветов по А.С. Бондарцеву, Н. Prauser Н.Д. Tresner, E.J. Backus.

Культурально-морфологические признаки изучали на следующих средах: минеральный агар I ISP 4, овсяной агар ISP3, синтетическая среда Гаузе №1, органическая среда Гаузе №2, крахмало-аммиачная среда, картофельный агар.

При изучении биохимических свойств штаммов определяли амилолитическую, протеолитическую активность. Изучали отношение культур к набору углеводов: глюкоза, арабиноза, мальтоза, D-маннит. I-рамноза, сахароза, лактоза, D-сорбит, инозит, манноза.

Для увеличения продуцирования биологически активных веществ стрептомицетами производили оптимизацию состава питательной среды. Были испытаны 5 видов жидких и 4 вида твердых питательных сред.

Получение лабораторных образцов биопрепаратов на основе *Streptomyces*, питательной среды проводили в условиях глубинного культивирования в колбах на 250 мл с 50 мл среды на круговой качалке с 240 об/мин, при температуре 28°C, в течение 5-ти суток.

Очаги заболеваний выявлялись рекогносцировочным обследованием питомников и лесных насаждений согласно метода надзора и лесопатологического обследования объектов по А.И. Воронцову, Е.Т. Мозолева, Э.С. Соколовой. Детальные обследования проводились в выявленных очагах заболевания. Учетные площадки закладывались размером 1 x 1 по диагонали участка с интервалом 5 - 15 м (в среднем от 4 до 10 учетных площадок), в них производился учет всех растений с подразделением на погибшие, больные и здоровые. Причины заболевания устанавливались микологическим анализом взятых с каждого участка 50-100 шт. образцов. Определение возбудителей болезней проводили методом микроскопирования спороношений гриба, использовали определители грибных болезней деревьев и кустарников Черемисинова, Журавлева И.И., определители фитопатогенных грибов из родов *Fusarium*, *Alternaria* и *Botrytis*.

Антагонистические свойства штаммов изучали посевом культур методом штрихов и агаровых блочков на крахмало-аммиачной питательной среде, картофельном агаре и среде Чапека. Активность определялась по зонам угнетения роста тест-объектов, в мм.

Для определения минимальной дозы штаммов рода *Streptomyces* оказывающих губительное действие на рост и развитие фитопатогенных грибов использовали метод последовательного разведения.

Для изучения влияния исследуемых штаммов на рост, развитие и формирование генеративных органов определяли морфофизиологические характеристики семян ели тьянь-шаньской в условиях модельных опытов с использованием штаммов рода *Streptomyces* в диапазоне концентраций 50, 100, 500 мг/л, в течение 6, 12, 24, 48 часов. Контролем служили семена замоченные в воде.

Полевые опыты были заложены в питомниках Джеты-Огузского, Кызыл-Суйского лесничеств Джеты-Огузского лесхоза, Боз-Учукского, Жергезского лесничеств Каракольского лесхоза, центрального питомника ГНПП «Каракол», питомника Ак-Суйского лесопытного хозяйства.

ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ШТАММОВ РОДА STREPTOMYCES В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПОЧВ КЫРГЫЗСТАНА

Для выделения новых штаммов рода *Streptomyces* и установления их экологической особенности и распространенности были изучены различные типы почв заповедных территорий, агробиоценозов и техногенных

ландшафтов Иссык-Кульской, Южно-Киргизской и Северо-Киргизской провинций. Полученные данные показали, что в исследованных нами типах почв встречаемость антагонистических форм актиномицетов находится в зависимости от степени возделывания и загрязненности почв, а также от их агрохимических и генетических свойств. Стрептомицеты в разных почвах имели различный набор групп и видов, разное соотношение их численности. Во всех исследованных нами типах почв преобладали представители секции *Cinereus*. Представители секции *Roseus* немного уступают по численности, затем идут секции *Albus* и *Azureus*. А представители секции *Helvolo-Flavus* обнаруживались в незначительном количестве (рис.1).



Рис.1 Таксономический состав *Streptomyces* и численное соотношение секций

Кроме этого установлено, что на распространённость стрептомицетов в почве существенное влияние оказывают климатические условия, сезонность, погодные условия и температурный режим. Как показывают данные рис. 2 наиболее часто актиномицеты выделялись летом в жаркую погоду, однако среди культур выделенных весной выделялось больше культур, обладающих широким спектром антагонистического действия.

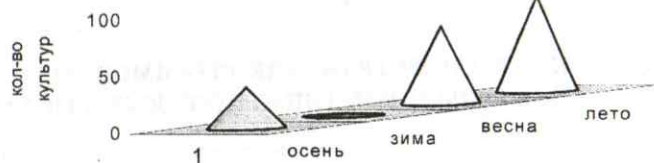


Рис.2. Встречаемость стрептомицетов по сезонам года

Численность актиномицетов рода *Streptomyces* в почвах заповедных территорий по сравнению с почвами подверженными техногенным воздействиям была высокой, но среди них количество штаммов с антагонистическими свойствами составляло всего в среднем 7,7%. тогда как 52,2% штаммов, выделенных из образцов почв техногенных экосистем - из зоны Ак-Тюской горно-обогатительной фабрики обладали сильными антагонистическими свойствами. Однако дальнейшее изучение их свойств показало, что штаммы, выделенные из почв подверженных техногенным воздействиям, теряют антагонистические свойства после 2-го пересева, тогда как штаммы, выделенные из почв не подверженных промышленным воздействиям, не теряют свои антагонистические свойства в течение 3-х лет. По-видимому, антагонистические свойства культур усиливаются под воздействием неблагоприятных факторов, так называемых «стрессовых» условий, а затем нормализуются при наступлении благоприятных условий.

В образцах почв заповедных территорий преобладают представители секции *Roseus*, *Albus*, *Cinereus*. Из них наибольшее число антагонистов обнаруживались из представителей секции *Albus*. В почвах же подверженных техногенным воздействиям доминирующими были представители секции *Cinereus* и *Albus*.

Таким образом, проведенные исследования дают основание полагать, что почвы Иссык-Кульской подпровинции отличаются богатым видовым разнообразием стрептомицетов, содержат наибольшее их количество по сравнению с другими исследованными образцами почв и характеризуются богатым содержанием форм с антагонистическими свойствами. Образцы почв Северо-Киргизской провинции занимают промежуточное положение по содержанию антагонистических форм стрептомицетов. Южно-Киргизская провинция характеризуется низким видовым содержанием стрептомицетов-антагонистов (рис.3).



Рис.3 Встречаемость стрептомицетов в почвах Кыргызстана

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ РОДА STREPTOMYCES

В этой главе охарактеризованы морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства природных штаммов *Streptomyces*, выделенные из различных почвенных биотопов Республики. Большинство выделенные из природных биотопов штаммы рода *Streptomyces* имели короткие цепочки спор в виде крючков и неправильных спиралей или цепочки спор в виде плотных спиралей. Почти все изучаемые штаммы умеренно разжижали желатину, процесс начинается через 10-12 суток и заканчивается спустя 25-30 суток. Крахмал гидролизovali энергично. Коагулируют молоко не окрашивая его.

Также была изучена способность выделенных штаммов усваивать различные источники углеродного питания. Исследуемые штаммы по-разному усваивали различные источники углеродного питания. Относительно слабый рост, на всех использованных источниках углерода, отмечен у штаммов выделенных из чернозема Иссык-Кульской области. Все штаммы слабее усваивают маннозу, хорошо усваивают глюкозу, 1-рамнозу, сахарозу.

В зависимости от источника углерода у культур отмечено различное пигментобразование. Наиболее ярко и насыщенно окраска культур выражена на среде ISP3.

Также была изучена способность выделенных штаммов ассимилировать различные источники азотного питания. Все штаммы хорошо усваивают KNO_3 , $NaNO_3$, $(NH_4)_2SO_4$, дрожжевой экстракт, пептон, слабее усваивают $NaNO_2$ и NH_4Cl .

Изучаемые штаммы хорошо растут на крахмально-аммиачной среде. на которой также ярко выражены их антибиотические свойства, слабее растут на овсяном агаре и на агаре Чапека.

На основании изучения вышеуказанных фенотипических характеристик нами описаны следующие штаммы *Streptomyces*, обладающие наиболее ярковыраженными антагонистическими свойствами.

1. Штамм К1-3, идентифицированный как *Streptomyces bambergiensis*, серия *Chromogenes*, Секция *Cinereus*, был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 1900 м н.у.м
2. Штамм 1К-6, идентифицирован как *Streptomyces afghaniensis* серия *Corulescens*, секция *Aureus*, был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, с. Чон-Кызыл-Суу на высоте 1900 м н.у.м.
3. Штамм 3(2) - идентифицированный как *Streptomyces aureofaciens*, серия *Chromogenes*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из образцов почв Ак-Тюзской горно-обогатительной фабрики на расстоянии 500м от хвостохранилища, высота над уровнем моря составляет 2500 м.

4. Штамм СПЗ-13 - идентифицированный как *Streptomyces wistariopsis*, серия *Fuscus*, секция *Roseus* штамм был выделен из пахотных полей Джеты-Огузского района, высота над уровнем моря составляет 1100 м.
5. Штамм 2ч-10, идентифицированный как *Streptomyces noursei*, серия *Chromogenes*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 2000 м н.у.м.
6. Штамм 3К-2, идентифицирован как *Streptomyces viridobrunneus*, серия *Chrysomallus*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 1900 м н.у.м.
7. Штамм 3(6), идентифицированный как *Streptomyces violaceoruber*, серия *Violaceus*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почв Ак-Тюзской горно-обогатительной фабрики. на высоте 2500 м н.у.м.
8. Штамм ТМ2-2, идентифицированный как *Streptomyces fumanus*, серия *Fuscus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из почв Токтогульского района, на высоте 1000 м н.у.м.
9. Штамм 3К-1, идентифицированный как *Streptomyces longispororuber*, серия *Ruber*, секция *Roseus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 1900 м н.у.м.
10. Штамм 2ч-8, идентифицированный как *Streptomyces griseochromogenes*, серия *Achromogenes*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 2000 м н.у.м.
11. Штамм ТК2-5, идентифицированный как *Streptomyces rubrogriseus*, серия *Violaceus*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почв Токтогульского района на высоте 1100 м н.у.м.
12. Штамм 2ч-7, идентифицированный как *Streptomyces heliomycini*, серия *Aureus*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из горного чернозема Джеты-Огузского района, на высоте 2000 м н.у.м.
13. Штамм АП-3, идентифицированный как *Streptomyces albaduncus*, серия *Chromogenes*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почв Национального природного парка "Ала-Арча", на высоте 2200 м н.у.м.
14. Штамм ЧП-К3, идентифицированный как *Streptomyces olivovariabilis*, серия *Chromogenes*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из почв Государственного национального природного парка "Чон-Кемин" на высоте 1900 м н.у.м.
15. Штамм Б1-18, идентифицированный как *Streptomyces fragilis*, серия *Fuscus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из горных почв Джеты-Огузского района, на высоте 1900 м н.у.м.

16. Штамм КЗ-3, идентифицированный как *Streptomyces longisporus*, серия *Albus*, секция *Albus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района, на высоте 2100 м н.у.м.
17. Штамм 6(7), идентифицированный как *Streptomyces rasemochromogenes*, серия *Fuscus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из образцов почв Ак-Тюзской горно-обогатительной фабрики на расстоянии 1 км от хвостохранилища, высота над уровнем моря составляет 2500 м.
18. Штамм 30(a), идентифицированный как *Streptomyces steffisburgensis*, серия *Coeruleus*, секция *Azureus*, штамм был выделен из почвенных образцов Джеты-Огузского района на высоте 2100 м н.у.м.
19. Штамм М9-D2, идентифицированный как *Streptomyces gramineus*, серия *Aureus*, секция *Cinereus*, штамм был выделен из предгорных почв Ат-Башинского района на высоте 2500 м н.у.м.
20. Штамм М5-D1, идентифицированный как *Streptomyces cirratus*, серия *Lavendulae-roseus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из почв высокогорного пояса на склоне хребта Ат-Башы, на высоте 3200 м н.у.м.
21. Штамм М10-B2, идентифицированный как *Streptomyces aterovivus*, серия *Fuscus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из степного пояса Ат-Башинского района, на высоте 2100 м н.у.м.
22. Штамм А1-С5, идентифицированный как *Streptomyces griseovivus*, серия *Fuscus*, секция *Roseus*, штамм был выделен из высокогорного пояса Ат-Башинского района, на высоте 3200 м н.у.м.

ГРИБНЫЕ БОЛЕЗНИ ВСХОДОВ, СЕЯНЦЕВ ЕЛИ ШРЕНКА

Как показала практика в хвойной зоне республики, наилучшей породой в горах Тянь-Шаня является местная лесообразующая порода – ель Шренка. поэтому в питомниках она является преобладающей породой.

Однако серьезным препятствием при выращивании стандартного посадочного материала являются болезни. Во время проведения работ по изучению болезней хвойных пород в питомниках Прииссыкулья и ГНПП "Чон-Кемин" Чуйской области нами выявлено 5 видов возбудителей болезней, повреждающих сеянцы и саженцы, которые наносят ощутимый ущерб хвойным питомникам и требуют проведения лесозащитных мероприятий.

- Гриб рода *Fusarium*, который относится к классу несовершенных, к группе гифомицетов. Гриб был выделен из пораженных однолетних сеянцев ели тянь-шаньской в питомнике Кызыл-Суйского лесничества Джеты-Огузского лесхоза. Вызывает инфекционное полегание сеянцев ели Шренка, в

годы эпифитотий очаг болезни может иметь распространение в питомнике достигая до 98%.

- Грибы из рода *Alternaria* относятся к классу несовершенных, группе гифомицетов. Гриб был выделен из пораженной хвои 15-20 – летних культур ели тянь-шаньской ГНПП «Чон-Кемин» Чуйской области. Является опасным возбудителем инфекционного полегания сеянцев хвойных пород, очаг распространения может достигать до 98%.

- Гриб *Hypodermella sulsigena* Tub возбудитель серого шютте, гриб из группы порядков дискомицеты; конидиальная стадия - *Hendersonia acicola* Munch. Et Tub. Нами впервые в Кыргызстане было обнаружено данное заболевание. Болезнь отмечалась преимущественно в 15-20 летних культурах ели Тянь-Шаньской ущелья "Каракол" Иссык-Кульской области. Проведенные нами опыты показали, что гриб сильно снижает всхожесть семян ели тянь-шаньской.

Гриб *Sclerotinia graminearum* Elen является возбудителем болезни выпревания сеянцев, который относится к группе порядков дискомицеты. Данная болезнь приурочена к участкам со злаковой растительностью и может быть опасной для всех видов хвойных пород при выращивании их на бывших сельхозугодьях. Нами указанная болезнь была зарегистрирована в питомнике Тургенского лесничества Каракольского лесхоза.

- Гриб *Lophodermium pinastri* является возбудителем болезни обыкновенное шютте ели, который относится к роду *Lophodermium* из группы порядков дискомицеты класса *Pinastri*. Данный возбудитель был выделен из пораженной хвои культур ели в возрасте 15-20 лет, в урочище Ок-Торкой. Болезнь поражает хвойные породы в возрасте 15-20 лет и может наносить ощутимый ущерб лесному хозяйству.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ

Для определения биологической активности выделенных из природы штаммов рода *Streptomyces* и отбор из них более эффективных культур, нами в лабораторных и производственных условиях были исследованы их антагонистические и ростстимулирующие свойства.

В табл.1 приведены, наиболее активные в отношении фитопатогенных грибов штаммы рода *Streptomyces*. Как показывают данные табл.1, из испытанных 18 штаммов рода *Streptomyces* 6 штаммов обладают наиболее выраженным антибиотическим действием на тест-объекты - фитопатогенные грибы. Проведенными исследованиями установлено, что активность одних и тех же штаммов по отношению к разным патогенам различна. что определяет спектр специализации изучаемого штамма.

Так, развитие фитопатогенного гриба *Alternaria* подавляли два штамма *S. bambergiensis* К1-3 и *S. rubrogriseus* ТК2-5, развитие *Fusarium* – 2 штамма *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. griseogromogenes* 2ч-8, а развитие гриба *Sclerotinia graminearum* Elen из числа исследуемых подавлял только один штамм -*S. griseogromogenes* 2ч-8, напротив развитие гриба *Hypodermella sulsigena* подавляли большинство исследуемых штаммов, в частности штаммы *S. griseogromogenes* 2ч-8, *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. viridobrunneus* 3К-2 и *S. wistariopsis* СПЗ-13.

Таблица 1

Эффективность лабораторных образцов биопрепаратов на основе штаммов рода *Streptomyces* в отношении фитопатогенных грибов

№	Номер лабораторный биопрепарата	штамма, образец	Радиус зоны лизиса тест-культур, мм			
			<i>Alternaria</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Sclerotinia graminearum</i> Elen	<i>Hypodermella sulsigena</i> Tub
1.	<i>S. bambergiensis</i> К1-3		20,6	17,8	10,0	10,0
2.	<i>S. noursei</i> 2ч-10		15,0	14,3	8,2	15,2
3.	<i>S. griseogromogenes</i> 2ч-8		15,5	20,0	20,0	20,0
4.	<i>S. afghaniensis</i> 1К-6		0	1,2	0	15,3
5.	<i>S. longispororuber</i> 3К-1		3,3	12,3	0	1,2
6.	<i>S. viridobrunneus</i> 3К-2		0	15,6	0	18,6
7.	<i>S. rubrogriseus</i> ТК2-5		18,0	21,0	12,3	21,0
8.	<i>S. fumanus</i> ТМ2-2		2,5	16,0	1,2	14,8
9.	<i>S. aureofuciens</i> 3(2)		6,4	4,2	1,1	1,6
10.	<i>S. violaceoruber</i> 3(6)		0	0	0	12,0
11.	<i>S. wistariopsis</i> СПЗ-13		3,4	16,3	11,2	20,0
12.	<i>S. rasemochromogenes</i> 6(7)		1,2	2,3	0,3	8,2
13.	<i>S. steffisburgensis</i> 30(a)		3,2	2,2	0,1	5,1
14.	<i>S. fragilis</i> Б1-18		1,0	2,5	0,5	13,6
15.	<i>S. longisporus</i> ЧКС3-3		2,0	2,3	0,3	3,5
16.	<i>S. albadancus</i> АПЗ-6		5,0	15,8	12,5	15,6
17.	<i>S. heliomycini</i> 2ч-7		15,0	16,2	14,3	5,4
18.	<i>S. olivovariabilis</i> ЧК-33		1,0	2,1	0,3	0,7
19.	Контроль		Рост обильный	Рост обильный	Рост обильный	Рост обильный

В лабораторных условиях проводились исследования по определению оптимальных концентраций биопрепаратов на основе различных штаммов рода *Streptomyces*, оказывающих ростстимулирующий и болезнестойчивый эффект, а также одновременно у них была определена фитотоксичность в отношении растений. Почти все испытуемые штаммы в концентрациях 50 и

100 мг/л сильнее проявили более высокий ростстимулирующий эффект, чем доза 500 мг/л. Высокую всхожесть давали семена, обработанные суспензией биопрепаратов штаммов *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. bambergiensis* К1-3, *S. heliomycini* 2ч-7, *S. wistariopsis* СПЗ-13, *S. fragilis* Б1-18, особо отличались штаммы *S. bambergiensis* К1-3, *S. wistariopsis* СПЗ-13, *S. fragilis* Б1-18, они не только повышали грунтовую всхожесть семян, но и значительно увеличивали органическую массу сеянцев, что подтверждает положительное влияние биопрепаратов на сеянцы (табл.2).

Таблица 2

Всхожесть семян ели тьянь-шаньской при обработке семян суспензией биопрепаратов *Streptomyces*.

Образец биопрепарата	Концентрация мг/л	Всхожесть в лаб. усл. %	Длина стебля на 25 сут, мм	Длина корня, мм	Масса проростка, мг
<i>S. bambergiensis</i> К1-3	50	86	4,6	4,3	188
	100	84	4,2	3,8	112
	500	85	4,0	3,8	124
<i>S. rubrogriseus</i> ТК2-5	50	84	4,3	3,6	160
	100	81	4,0	3,0	166
	500	80	3,8	3,0	168
<i>S. noursei</i> 2ч-10	50	76	3,6	3,0	108
	100	74	3,7	3,1	119
	500	74	3,8	3,3	129
<i>S. griseogromogenes</i> 2ч-8	50	70	3,0	2,9	126
	100	нет всх.			
<i>S. heliomycini</i> 2ч-7	50	84	3,5	3,3	113
	100	86	3,6	3,2	121
	500	89	3,5	3,3	128
<i>S. viridobrunneus</i> 3К-2	50	82	4,0	3,8	109
	100	78	3,8	3,2	119
	500	78	3,7	3,8	128
<i>S. wistariopsis</i> СПЗ-13	50	93	5,2	4,5	192
	100	92	4,4	3,6	119
	500	90	4,3	3,6	124
<i>S. fragilis</i> Б1-18	50	92	4,8	3,6	177
	100	86	4,7	3,8	126
	500	84	4,6	3,8	129
Контроль	вода	78	3,4	3,3	106

Проведенные опыты показали, что в вариантах с образцом *S. griseogromogenes* 2ч-8 в концентрации выше 50 мг/л напротив ингибировал развитие семян. Так в концентрации 100 мг/л в этих вариантах рост всходов на 10 сутки отсутствовал, в то время как в других вариантах рост их в лабораторных условиях, отмечался на 6-8 сутки. В вариантах с образцами *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. wistariopsis* СПЗ-13, *S. bambergiensis* К1-3 и *S. fragilis* Б1-18 порог ингибирования роста семян находился в пределах 100-150 мг/л. Таким образом, среди изучаемых лабораторных образцов биопрепаратов *S. wistariopsis* СПЗ-13, *S. bambergiensis* К1-3, *S. rubrogriseus* ТК2-5 и *S. fragilis* Б1-18 показали наилучшие результаты по стимулированию роста семян, повышению их грунтовой всхожести и были отобраны для дальнейших полевых опытов. Результаты проведенных опытов показали, что изучаемые биопрепараты на основе штаммов рода *Streptomyces* обладают не только рост стимулирующим свойством, но и активно подавляют развитие и распространение болезней ели тянь-шаньской.

Отбор и испытание штаммов рода *Streptomyces* для борьбы с инфекционным полеганием семян ели тянь-шаньской. Испытание штаммов рода *Streptomyces* в различных дозировках и экспозициях обработки семян проводили в лабораторных условиях и полупроизводственных условиях. Сохранность всходов в среднем составила 55,6%. Наилучшие результаты, в варианте с обработанной культурой *Alternaria*, показали штаммы *S. bambergiensis* К1-3 и *S. wistariopsis* СПЗ-13, которые в концентрации 500-1000 мг/л обеспечили сохранность всходов в среднем на 72,3%, при этом отпад семян составил 27,7%, *S. rubrogriseus* ТК2-5 – 75,4% и 24,6% соответственно, в концентрации 500 мг/л штамм *S. griseogromogenes* 2ч-8 обеспечил сохранность всходов на 80,2%, соответственно отпад их составил 19,8%.

Таким образом, для дальнейших испытаний в разработке мер борьбы с выпреванием семян нами был отобран всего один штамм – *S. griseogromogenes* 2ч-8, в концентрации 1000 мг/л, и 6-12-ти часовой экспозицией семян.

Отбор и испытание штаммов рода *Streptomyces* для борьбы с серым шютте ели тянь-шаньской. Результаты наших исследований показали, что возбудитель серого шютте *Hypodermella sulsigena* при инокулировании семян ели тянь-шаньской в суспензии чистой культуры возбудителя снижает всхожесть семян ели тянь-шаньской до 91,3%, при этом отмечалось поражение корневой системы всходов. При испытании штаммов *Streptomyces* наилучшие результаты получены при замачивании семян в суспензии штамма *S. rubrogriseus* ТК2-5, при концентрации 100 мг/л выход здоровых семян составил 89,2%, а процент развития болезни 10,8% соответственно. при

использовании *S. wistariopsis* СПЗ-13, также при концентрации 100 мг/л выход здоровых семян составил 91,3%, развитие болезни соответственно – 8,7%, при *S. viridobrunneus* ЗК-2 при концентрации 100 мг/л выход здоровых семян составил 80,6%, процент развития болезни соответственно – 19,4%.

Таким образом, замачивание семян в биопрепаратах лабораторного образца *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. wistariopsis* СПЗ-13 и *S. viridobrunneus* ЗК-2 в концентрации 100 мг/л и 6-12-ти часовой экспозиции, защищает семена ели от повреждения возбудителем серого шютте *Hypodermella sulsigena* и в то же время оказывает на них рост стимулирующее действие.

Эффективность лабораторных образцов биопрепаратов на рост и развитие всходов и семян ели тянь-шаньской в полевых условиях.

Полевые опыты проводились в 2000-2003 гг. в питомниках Ак-Суйского лесоопытного хозяйства Национальной Академии Наук Кыргызской Республики, Кызыл-Суйского и Джеты-Огузского лесничеств Джеты-Огузского лесхоза.

В отдельные годы в питомниках Ак-Суйского лесоопытного хозяйства и Джеты-Огузского лесничества Джеты-Огузского лесхоза отпад семян от полегания имел массовый характер и достигал до 89%.

Результаты опытов показали, что предварительная обработка семян в суспензиях штаммов рода *Streptomyces* обеспечивает сохранность семян, которая к концу вегетационного периода была на 72-77% выше, чем в контрольных вариантах, где сохранность всходов составила всего 32% от появившихся всходов. Анализ полученных результатов показал, что из семи испытываемых штаммов наилучшие результаты при защите посевов от инфекционного полегания семян показали штаммы *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. wistariopsis* СПЗ-13 и *S. griseogromogenes* 2ч-8 (табл.3).

Таблица 3

Сохранность семян при обработке биопрепаратов *Streptomyces*

Варианты опыта	кол-во всходов на 1 м, шт.	погибло от полегания, шт.	сохранилось семян, шт.	% сохранности
<i>S. rubrogriseus</i> ТК2-5	258	56	202	78,3
<i>S. bambergiensis</i> К1-3	256	61	195	76,1
<i>S. griseogromogenes</i> 2ч-8	250	49	201	80,4
<i>S. wistariopsis</i> СПЗ-13	260	58	202	77,7
<i>S. fragilis</i> Б1-18	256	72	184	71,8
<i>S. noursei</i> 2ч-10	254	67	187	73,6
<i>S. viridobrunneus</i> ЗК-2	256	62	194	75,7
Контроль	252	169	83	32,9

Таким образом, предпосевная обработка семян суспензиями актиномицетных препаратов на основе штаммов рода *Streptomyces* обеспечивала 70 % и более сохранность всходов по сравнению с контролем, что обеспечивало повышение устойчивости всходов ели тьянь-шаньской к инфекционному полеганию сеянцев в 3,6-4,0 раз больше по сравнению с контролем. Наилучшие показатели по обеспечению сохранности сеянцев от инфекционного полегания показали варианты со штаммами *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. wistariopsis* СП3-13 и *S. griseogromogenes* 2ч-8, в концентрации 500 мг/л при экспозиции семян в течении 6-ти часов, а штаммы *S. wistariopsis* СП3-13 и *S. fragilis* Б1-18 оказывали ростстимулирующее действие на развитие сеянцев, особенно на развитие корневой системы.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ОПЫТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ РОДА *STREPTOMYCES*

Для поддержания стабильности культуры продуцентов практически ценных антибиотиков проводили исследования по выбору оптимального состава питательных сред.

Для наработки опытной партии актиномицетного препарата на основе штаммов *Streptomyces* путем глубоинной ферментации были подобраны жидкие питательные среды. Было испытано 5 видов жидких питательных сред, содержащие в качестве источников углерода и азота сложные органические соединения: соевая мука (обезжиренную и с жиром), кукурузная мука, пептон. В экспериментах были использованы 6 культур, проявившие выраженную антибиотическую активность против возбудителей грибных болезней.

Разные источники питания как правило по разному влияли на биологическую активность исследуемых культур. Проведенные исследования показали, что наилучшую биологическую активность исследуемые культуры проявляли через 144-150 часов ферментации. В ходе проводимых исследований установлено, что биологическая активность исследуемых штаммов на разных питательных средах различна (рис. 4).

Среда №1, где в состав питательной среды входила соевая мука характеризовалась средним показателем биологической активности штаммов. Наилучшие показатели были отмечены у штамма *S. rubrogriseus* (18,3 мм), а наименьшую активность на этой среде проявил штамм *S. viridobrunneus*, у которого радиус зоны лизиса составил 5,2 мм.

На среде №2, где в состав питательной среды была добавлена обезжиренная соевая мука, были получены наилучшие показатели биологической активности всех исследуемых штаммов. Только у штамма *S.*

fragilis этот показатель был равен 14,2 мм, в то время как радиус зоны лизиса остальных штаммов не опускался ниже пределов 20,0 мм.

На среде №3, где в качестве источников питания была использована кукурузная мука, активность исследуемых штаммов была низкой, и радиус зоны лизиса варьировала в пределах от 4,2 мм (*S. viridobrunneus*) до 9,6 мм (*S. bambergensis*).

На среде №4, где в качестве источников питания были использованы глюкоза и пептон отмечена высокая биологическая активность штаммов *S. griseogromogenes* и *S. wistariopsis*, радиус зоны лизиса которых достигала 21,3 мм и 22,0 мм, а наименьший показатель у штамма *S. viridobrunneus* (12,3 мм).

На среде №5, где в качестве источников питания была использована глюкоза без пептона отмечалось равномерное проявление биологической активности исследуемых штаммов. Радиус зоны лизиса штаммов варьировал в пределах 12,4 мм (*S. wistariopsis*) и 18,9 мм (*S. griseogromogenes*), однако на этой среде не было отмечено обильного роста культур, по сравнению со средой №4.

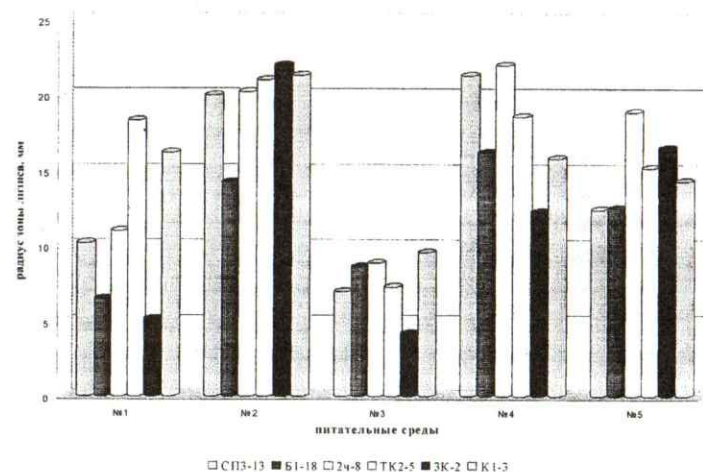


рис.4. Биологическая активность штаммов рода *Streptomyces* на разных питательных средах.

Таким образом, наиболее благоприятной питательной средой для роста и проявления биологической активности штаммов оказалась среда №2 и №4, которые рекомендованы в производство для выпуска биопрепаратов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено широкое распространение актиномицетов рода *Streptomyces* в почвенных биотах Кыргызстана. Почвы Иссык-Кульской подпровинции

- характеризуются наибольшим содержанием видов с антибиотическими свойствами, по сравнению с почвами Южно Киргизской и Северо-Киргизской провинциями.
- Почвы естественных экосистем, в том числе заповедных территорий, содержат богатое видовое разнообразие стрептомицетов, но с малым количеством штаммов – антагонистов с устойчивыми антибиотическими свойствами.
 - Почвы, подверженные техногенным воздействиям, характеризуются высоким содержанием штаммов-антагонистов, но с неустойчивыми свойствами.
 - Всего выделен 331 штамм рода *Streptomyces*, из них 22 штамма с антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенов, 2 штамма с ростстимулирующим действием на всходы и сеянцы ели Шренка.
 - Выявлено 5 видов возбудителей грибных болезней, повреждающих сеянцы и саженцы ели Шренка, из них возбудитель болезни серого шютте *Hypodermella sulsigena* Tub. впервые нами выявлен и выделен в чистую культуру в условиях Кыргызстана.
 - Установлено, что фитопатогенный гриб *Hypodermella sulsigena* Tub. сильно снижает всхожесть семян ели тьянь-шаньской в природе.
 - Установлена антагонистическая активность изучаемых штаммов по отношению к различным фитопатогенным грибам. Наиболее широким спектром антибиотического действия обладал штамм *S. griseogromogenes* 2ч-8 подавляя рост и развитие всех испытуемых пяти видов возбудителей болезней ели тьянь-шаньской. Узким спектром антибиотического действия обладал штамм *S. bambergiensis* K1-3, который проявил антагонизм в отношении только одного вида фитопатогена рода *Alternaria*.
 - Более восприимчивы к антагонистическому воздействию штаммов рода *Streptomyces* возбудители рода *Fusarium* и *Hypodermella sulsigena* Tub., а более устойчив возбудитель выпревания сеянцев *Scrotinia graminearum* Elen, его рост и развитие подавлял только один вид *Streptomyces griseogromogenes* 2ч-8.
 - Выявлен штамм *S. bambergiensis* K1-3 и рекомендован к получению средств защиты хвойных пород от полегания сеянцев, вызываемое грибом из рода *Alternaria* (Патент №575)
 - Выявлен штамм *S. fragilis* Б1-18 (Патент №651) обладающий ростстимулирующим эффектом на всходы ели тьянь-шаньской и сельскохозяйственных культур.
 - Выявлен штамм *S. wistariopsis* СПЗ-13, обладающий ростстимулирующим эффектом на всходы ели тьянь-шаньской, повышающий их иммунитет к грибным болезням.

- Установлено, что стимулирование роста сеянцев ели тьянь-шаньской выражается в развитии мощной корневой системы и увеличении их органической массы.
- Установлено, что предпосевная обработка семян штаммами *S. rubrogriseus* ТК2-5, *S. bambergiensis* K1-3, *S. heliomycini* 2ч-7, *S. wistariopsis* СПЗ-13, *S. fragilis* обеспечивает повышение грунтовой всхожести семян.
- Подобран состав питательных сред для глубинного культивирования культур рода *Streptomyces*, обеспечивающий максимальный выход биологически активных метаболитов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

- К истории изучения актиномицетов// Сб. науч. тр. Кырг. аграрной академии.-2001.-Вып.3,Ч.2.-С.162-166. (Соавт.:Т.Д.Доолоткельдиева)
- Биотехнологический потенциал почвенных микроорганизмов в решении экологических проблем // Экологическая безопасность в Кыргызстане: Междунар. Науч.-практ.конф., посвящ. 50-летию КГПУ им. И.Арабаева.- Бишкек, 2001.-С.174-177.(Соавт.: Т.Д.Доолоткельдиева)
- Антагонистические и ростстимулирующие свойства новых штаммов рода *Streptomyces*, выделенных из горных почв Кыргызстана // Вестник Института экологии и природопользования при КГПУ им. И.Арабаева и OSCE.-2002.-Вып.2.-С.29-34.(Соавт.:Т.Д.Доолоткельдиева, Сарыбай кызы Кенже, М.У.Конурбаева,)
- Фенотипическая характеристика новых штаммов рода *Streptomyces*, выделенных из различных экотипов Кыргызстана //Исследования живой природы Кыргызстана.-Бишкек, 2002. - Вып.4.-С.27-32. (Соавт.: Т.Д.Доолоткельдиева, Ч.М.Омургазиева)
- Динамика численности и видового состава почвенных микроорганизмов Ат-Башинской долины // Сб. науч. тр.Кырг.аграрного ун-та. - 2003. - Вып.2,-Ч.1.-С.249-253. (Соавт.: Т.Д.Доолоткельдиева, Ч.М.Омургазиева, М.У.Конурбаева)
- К изучению микробиологического разнообразия почв Внутреннего ТяньШаня// Вестник Института экологии и природопользования при КГПУ им. И.Арабаева.-2003.-Вып3.- С.109-113. (Соавт: Т.Д.Доолоткельдиева, Ч.М. Омургазиева, М.У.Конурбаева)
- Здоровый сеянец – Здоровый лес// Известия ВУЗов. –2004.-№3.- С.112-114.(Соавт.: Т.Д.Доолоткельдиева)
- Распространенность стрептомицетов – антагонистов в почвах Кыргызстана// Известия ВУЗов. –2004.-№3.- С.58-61.(Соавт.: Т.Д.Доолоткельдиева)

9. Биоразнообразие Streptomyces высокогорных экосистем Кыргызстана и их биотехнологический потенциал// Вестник Аграрной науки Узбекистана.- Ташкент, 2004.-№3(17).-С.85-90. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева)
10. Биологическая эффективность новых штаммов Streptomyces для стимуляции роста семян хвойных пород //Исследования живой природы Кыргызстана.- Бишкек, 2004. - Вып.5.-С.101-105. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева)
11. Подбор оптимального метода хранения и питательной среды для штаммов рода Streptomyces// Наука и новые технологии.- 2005.-№1.-С.24-30
12. Biodiversity of Streptomyces of high-mountain ecosystems in Kyrgyzstan and its' biotechnological potential //Book of Abstracts.- Badajoz (Spain), 2005.-р.567. (co-author T.Doolotkeldieva)
13. Пат.№651 Кырг.Респ. Штамм актиномицета Streptomyces fragilis B1-18 для стимуляции роста хвойных пород и сельскохозяйственных культур/ Т.Д. Доолоткельдиева, Н.Э. Тотубаева, М.У.Конурбаева.-20020090.1; Заявка 30.10.2002;Опубл.30.04.2003, Бюл.№4
14. Пат.№575 Кырг.Респ. Штамм актиномицета Streptomyces bambergiensis K1-3 для защиты хвойных пород от болезней и стимуляции их роста/ Т.Д. Доолоткельдиева, Н.Э. Тотубаева.-20010067.1; Заявка 6.11.2001; Опубл.31.07.2003, Бюл.№7.

Тотубаева

Резюме

Тотубаева Нурзат Эрмековна

Новые штаммы Streptomyces – антагонисты возбудителей грибных болезней ели Шренка

03.00.16 – экология и 03.00.07 – микробиология

Ключевые слова: Экология, распространенность Streptomyces в почвах, биофунгицидная активность штаммов, биостимуляторы всходов и семян ели Шренка, фитопатогены ели Шренка.

Объект исследования: почвенные образцы, почвенные штаммы Streptomyces, возбудители грибных болезней ели Шренка.

Цель исследований: Изыскание высокоактивных культур Streptomyces, обладающих сильным антибиотическим действием в отношении возбудителей грибных болезней ели Шренка и биостимулирующим эффектом на рост и развитие их всходов.

Метод исследования: Микробиологический, фитопатологический, биохимический и микологический.

Полученные результаты и новизна: Выявлены местные штаммы рода Streptomyces обладающие избирательным антибиотическим действием против возбудителей болезней ели Шренка.

Установлен спектр действия и летальные дозы испытанных штаммов для каждого вида фитопатогенного гриба (Fusarium, Alternaria, Hypodermella sulsigena Tub., Sclerotinia graminearum Elen.).

Установлены оптимальные концентрации лабораторных образцов биопрепаратов Streptomyces для стимулирования роста всходов и семян, для повышения их иммунитета к возбудителям грибных болезней хвойных пород.

Подобраны оптимальные составы питательных сред для длительного поддержания биологической активности природных штаммов в лабораторных условиях.

В результате исследований отобраны высокоактивные штаммы рода Streptomyces – антагонисты возбудителей болезней ели Шренка (Патент №575) и стимуляторы роста семян хвойных пород и сельскохозяйственных растений (Патент №651).

Степень использования: Создана коллекция новых штаммов Streptomyces обладающих антибиотическим и ростстимулирующим действием. Отобраны высокоактивные штаммы и рекомендованы для производства актиномицетных препаратов в промышленных условиях. Отобраны высокоактивные штаммы рода Streptomyces – антагонисты возбудителей болезней ели Шренка (Патент №575) и стимуляторы роста семян хвойных пород и сельскохозяйственных растений (Патент №651). Материалы исследований будут использованы работниками Государственной лесной службы при планировании и проведении лесозащитных мероприятий.

Область применения: Микробиология, экология, охрана природы, защита растений, лесная фитопатология, лесная экология.

Тотубаева

Резюме

Тотубаева Нурзат Эрмековна

Жаңы Streptomyces штамдары – Шренка карагайынын козу карын илдеттеринин козгогучтарынын антагонисттери

03.00.16 – экология жана 03.00.07 – микробиология

Негизги сөздөр: Streptomyces штамдарынын экологиялык өзгөчөлүктөрү жана топуракта таралышы, биофунгицидик активдүүлүгү, Шренка карагайынын өнүмдөрүнүн, жаш көчөттөрүнүн өсүүсүн тездетүүчү биостимулятор, Шренка карагайынын фитопатогендери.

Изилдөө объектиси: топурак үлгүлөрү, Streptomyces топурак штамдары, Шренка карагайынын козу карын илдеттерин козгогучтар.

Изилдөөнүн максаты: Шренка карагайынын козу карын илдеттеринин козгогучтарына каршы күчтүү антибиотикалык таасири бар жана анын

өнүмдөрүнүн өсүшүн тездетүүчү өтө активдүү Streptomyces культураларын издөө.

Изилдөөнүн методу: Микробиологиялык, фитопатологиялык, биохимиялык жана микологиялык.

Алынган натыйжалар жана жаңылыктар: Тандап таасир көрсөтүүчү антибиотикалык касиетке ээ болгон жергиликтүү Streptomyces штаммдары табылды. Изилденген штаммдардын фитопатогендик козу карындын түрүнө (Fusarium, Alternaria, Hypodermella sulsigena Tub., Sclerotinia graminearum Elen.) жараша антибиотикалык таасир көрсөтүүчү спектри жана леталдык дозалары аныкталды. Лабораторияда алынган Streptomyces биопрепараттарынын карагай өнүмдөрүнүн жана жаш көчөттөрүнүн өсүшүн тездетүүчү, алардын козу карын илдеттеринин козгогучтарына каршы чыдамдуулугун жогорулатуучу оптималдык концентрациялары аныкталды.

Штаммдардын биологиялык активдүүлүгүн лаборатория шартында узак убакыт кармоо үчүн оптималдык тамак чөйрөлөрүнүн курамы такталды. Ийне жалбырактуу дарактарды илдеттен сактоо жана алардын өсүшүнө өбөлгө түзүү үчүн Streptomyces bambergiensis K1-3 актиномицеттеринин штаммы ойлоп табылганы үчүн патент алынды. Себилип өстүрүлүүчү ийне жалбырактуу дарактар менен айыл чарба өсүмдүктөрүнүн өсүүсү үчүн Streptomyces fragilis B1-18 актиномицетинин штаммы ойлоп табылганы үчүн патент алынды.

Пайдалануусу: Антибиотикалык жана өсүүнү тездетүүчү касиети бар жаңы Streptomyces штаммдарынын коллекциясы түзүлдү. Жогорку активдүү штаммдар тандалып алынып актиномицет препараттарын өнөр жайда өндүрүүгө сунуш кылынды. Шренка карагайынын козу карын илдеттеринин козгогучтарынын антагонисттери (№575 патент) жана ийне жалбырактуу дарактардын өнүмдөрүнүн жана айыл чарба өсүмдүктөрүнүн өсүүсүн тездетүүчү (№651 патент) жогорку активдүү Streptomyces штаммдары тандалып алынды. Изилдөөнүн материалдарын Мамлекеттик токой чарба кызматынын кызматкерлери токой сактоо жана коргоо чараларын пландаштырууда жана жүргүзүүдө пайдаланышат.

Колдонуу тармагы: Микробиология, экология, айлана чөйрөнү коргоо, өсүмдүктөрдү коргоо, токой фитопатологиясы, токой экологиясы.

Resume

Totubaeva Nurzat Ermekovna

New Strains of Streptomyces – Antagonists of Shrenk Fur Fungal Pathogens

03.00.16 –Ecology and 03.00.07 -Microbiology

Key words: ecology, Streptomyces prevalence in soil, strains' biofungicidal activity, biostimulants of Shrenk fur sprouts and seedlings, Shrenk fur phytopathogens.

Research object: soil samples, Streptomyces soil strains, Shrenk fur fungal pathogens.

Purpose of the research: research of high-activity Streptomyces cultures with strong antibiotic action towards Shrenk fur fungal pathogens and biostimulation effect on its sprouts growth and development.

Research method: microbiological, phytopathological, biochemical and mycological.

Findings and novelty: local Streptomyces strains found with selective antibiotic action towards Shrenk fur fungal pathogens.

Action spectrum and lethal doses of the tested strains measured for each species of phytopathogenic fungi (Fusarium, Alternaria, Hypodermella sulsigena Tub., Sclerotinia graminearum Elen.).

Optimal concentration of Streptomyces laboratory biological preparations determined for sprouts and seedlings growth stimulation and for strengthening their immunity towards fungal pathogens of conifers.

Optimal compositions of nutrient mediums sorted out to support prolonged biological activity of natural strains in laboratory environment.

As a result of the research, high-activity strains of Streptomyces, antagonists of Shrenk fur fungal pathogens were selected (Patent #575) as well as growth stimulants for conifers and agricultural plants seedlings (Patent #651).

Efficiency: A collection of new strains of Streptomyces with antibiotic and growth stimulating action created. High-activity strains selected and recommended for industrial production of actinomycete preparations. High-activity strains of Streptomyces, antagonists of Shrenk fur fungal pathogens selected (Patent #575) as well as growth stimulants for conifers and agricultural plants seedlings (Patent #651). The research findings and materials will be used by the State Forestry Agency specialists in planning and environmental activities.

Field of application: Microbiology, ecology, environment protection, plant protection, forestry phytopathology, forestry ecology.

Подписано в печать решением Межведомственного диссертационного совета Д.03.05.277 от 25 мая 2005 года протокол №7. Тираж 100 экз. Объем 1 п.л. Формат 60x84/16

Отпечатано в тип. ПЛ №3, ул. Раззакова, 62. Тел. 66-00-07. Зак. 191