

Хамидова С.Х.,
Мустафаева Ф.А.,
Якубов Ш.Н.,
Ибодов Б.,
Мирахмедова С.С.

ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ И ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ГРИБОВ РОДА TRICHODERMA

Бухарский государственный медицинский институт

Проблема выделения и внедрения в практику новых высокоактивных штаммов микроорганизмов-продуцентов целлюлозолитических ферментов весьма актуальна. Одной из основных сфер практического применения целлюлозолитических ферментов является кормопроизводство. Силос из отходов растениеводства с использованием ферментной массы, позволяет получить полноценный корм, содержащий в достаточном количестве белки, витамины, аминокислоты. Имеющиеся в литературе данные показывают, что наиболее активные продуценты целлюлозолитических ферментов встречаются среди грибов.

Задача наших исследований заключалась в выделении из природных источников новых целлюлозолитических активных штаммов, определении их родовой и видовой принадлежности и изучении их цитоморфологических особенностей.

Грибы продуценты целлюлаз выделяли из почвы и гниющих растительных остатков. Все штаммы подвергались исследованию после проверки их целлюлозолитической активности. При определении родовой и видовой принадлежности использовали соответствующие определители. Изучение культуральных свойств исследуемых грибов проводили в динамике гигантских колониях выращенных на среде Чапека и сусло-агаре при температуре 28-30 градусов.

Определение целлюлозолитической активности гриба проводили по видоизменной методике Mandels. Для получения целлюлозолитических ферментов микроорганизмы - продуценты выращивали в глубинных и поверхностных условиях. В глубинных условиях культивирования грибы выращивали в колбах Эрленмейера объемом 500 мл со 100 мл среды Mandels

В течение 3 суток. Поверхностное культивирование проводили на среде, состоящей из равных частей соломы и отрубей. Активность целлюлаз определяли в 10% водной вытяжке 2-х суточной культуры.

Из исследованных образцов почвы и гниющих растительных остатков было выделено 250 культур микроскопических грибов, которые анализировали на способность образовывать целлюлозолитические ферменты. Среди выделенных грибов – продуцентов целлюлозолитических ферментов в доминирующем количестве обнаруживались грибы из рода *Trichoderma*. Второе место по количеству активных продуцентов целлюлаз занимали грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Грибы родов *Fusarium* и *Chaetomium* проявляли слабую целлюлозолитическую активность. Наиболее активные штаммы грибов в дальнейшем детально изучали.

Как показывают данные, приведенные в таблице 1, все исследованные грибы рода *Trichoderma* обладали целлюлозолитической активностью, хотя и в разной степени.

Наивысшая целлюлозолитическая активность по отношению к хлопковому волокну при поверхностном способе культивирования отмечена у *Trichoderma* sp.-9 и *Trichoderma* sp.-52. *Trichoderma* sp.-76.

Аналогичные результаты биосинтеза целлюлозолитических ферментов по отношению к хлопковому волокну получены при глубинном способе выращивания. Наилучшая активность фермента, гидролизующего NA-КМЦ при поверхностном выращивании отмечалась у *Trichoderma* sp.-112, *Trichoderma* sp.-9 и *Trichoderma* sp.-205. У грибов *Trichoderma* sp.-7, *Trichoderma* sp.-

Штаммы грибов рода <i>Trichoderma</i>	Поверхностное культивирование	Глубинное культивирование
	Активность, ед / г	
	Na-KMЦ хлопковое волокно	Na-KMЦ хлопковое волокно
T.sp. -9	68 120	6,2 12,3
T.sp.-52	56 105	6,0 9,8
T.sp.-7	50 28	5,2 3,6
T.sp.-76	55 32	4,5 3,0
T.sp.-112	70 46	6,6 4,3
T.sp.-205	65 85	6,7 4,4
T.sp.-40	55 80	6,4 7,6

Культуральные признаки грибов рода <i>Trichoderma</i> sp.-9				
Изучаемые признаки	<i>Trichoderma</i> sp.-9,52	<i>Trichoderma</i> sp.- 112, 205	<i>Trichoderma</i> sp.-7 и -76	<i>Trichoderma</i> sp.-40
Размер колонии на 3 сутки	Диаметр 14 см	Диаметр 10-12см	Диаметр 8-10 см	Диаметр 10-12 см
Окраска колоний	Вначале водянисто-белые с конидиеобразованием изменяются от беловато – зеленого к оливково-зеленому	Вначале водянисто-белые с конидиеобразованием. Ярко-зеленые, затем темно-зеленые	Вначале грязно-белые, затем переходят от желто-зеленого к темно зеленому	Окраска колоний изменяются от белого до светло зеленого к темно - зеленому
Строение колоний	Воздушный мицелий сильно развитый, рыхловатый, пушистый	Вначале развивается мощный гладкий, разветвленный субстратный мицелий, Затем от субстратного мицелия поднимается равномерный ватообразный, воздушный мицелий	Колонии со скудным воздушным мицелием. Середина исчезающая, по краям плотная. Мицелий тонкий нитевидный, прижатый к субстрату	Колонии волокнистые. Мицелий сильно разветвленный, образует воздушные гифы

76, *Trichoderma* sp.-40 уровень активности НА-КМЦ был значительно ниже. Наиболее высокой активностью ферментов, гидролизующих НА-КМЦ при глубинном культивировании обладали *Trichoderma* sp.-205 и *Trichoderma* sp.-112.

Значения активности целлюлаз при глубинном способе выращивания были ниже, чем при поверхностном. У наиболее активных штаммов грибов рода *Trichoderma* изучались – культуральные признаки с целью установления их систематического положения.

Результаты исследований показали, что грибы рода *Trichoderma* отличаются большой изменчивостью культуральных признаков. Например, по скорости роста колоний их можно разделить на 3 группы: быстрорастущие, промежуточные и медленно растущие. Так, из 7-и штаммов грибов наиболее высокой скоростью роста отличались рода *Trichoderma* sp.-9,52, промежуточные положение занимали штаммы *Trichoderma* sp.-112 и *Trichoderma* sp.-205, а грибы *Trichoderma* sp.-7 и -76 росли относительно медленно.

Детальное изучение указанных характеристик в соответствии с системой Rifai позволило отнести выделенные штаммы *Trichoderma* sp.—9,52 к *Trichoderma Longibrachiatum*, *Trichoderma* sp.-112, 205 – *T.koningii*, *Trichoderma* sp.-40 – *T.harzianum* *Trichoderma* sp.-7,76 - *T. aureo-virde*.

Таким образом, выделены и определены до вида активные штаммы целлюлозолитических ферментов, установлена способность грибов рода *Trichoderma* образовывать целлюлозолитические ферменты.

Культивирование полученных штаммов как при глубинном, так и при поверхностном способе культивирования показывает что, новые штаммы вполне технологичны и могут быть использованы как генетически исходный материал для получения промышленных линий продуцентов целлюлаз.

Использованная литература:

1. Султанова И.Г., Ташпулатов Ж., Турабова Я.У., Мирзарахимова М. Выделение и отбор микроорганизмов –деструкторов полимерных материалов. Узбекский биологический журнал,1998. №5. С.10-13
2. Ташпулатов Ж., Шульман Т.С., Байбаев Б.Г. Онтогенез гибридных культур *Trichoderma harzianum* продуцентов целлюлаз и белка. Доклады АН РУ,1999. №1. С. 50-52.
3. Рудаков О.Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение», М., 1981. С.157.
4. Салина О.А. Ферментативная активность грибов рода *Trichoderma* Pers: Fr. Науч. достиж. Микробиол. Нап. X-ву. Ч. 1. Вильнюс, 1988. С. 105-108.
5. Rifai M.A. A revision of the genus *Trichoderma*» - Mycologia. Papers, 1969, p. 116.