

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ОШСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Межведомственный диссертационный совет Д.03.11.036

На правах рукописи
УДК 582.288 (575.2) (043.3)

Бобушова Сайкал Токтосуновна

**Эндوفитные грибы высших растений Кыргызстана
и их биологические свойства**

03.02.01 – ботаника

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Бишкек – 2012

Работа выполнена в лаборатории гельминтологии и экологии микроорганизмов Биолого-почвенного института Национальной академии наук Кыргызской Республики

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Доолоткелдиева Тинатин Доолоткельдиевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Мукашева Тогжан Джангельдиевна

кандидат биологических наук
Сабилова Жаныл Нуркановна

Ведущая организация: Кыргызская Государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева

РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции»
Министерства образования и науки Республики
Казахстан

Защита состоится « 20 » декабря 2012 г. в 13.00 часов на заседании межведомственного диссертационного совета Д.03.11.036 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук при Биолого-почвенном институте Национальной академии наук Кыргызской Республики (соучредитель: Ошский технологический университет им. М.М. Адышева Министерства образования и науки Кыргызской Республики) по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке НАН КР по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265а

Автореферат разослан «20» ноября 2012г.

Учёный секретарь
межведомственного
диссертационного совета
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник



С.Л. Приходько

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Микроскопические грибы – неотъемлемый компонент наземных экосистем. Они встречаются в экстремальных условиях обитания (R.Turnau, 1988;), при высоких температурах (В.И. Билай, 1979; Л.Г. Логинова, 1966), при низких температурах (А.А. Имшенецкий, 1984; С.П. Лях, 1981), во льдах Арктики, высоких слоях атмосферы, в филосфере и эндотканях растений и т.д.

Среди них особое положение занимают так называемые эндофитные гифальные грибы, обитающие во внутренних органах высших растений. Эндофитные грибы находятся в симбиотической ассоциации с различными видами растений, не вызывая при этом никаких внешних признаков повреждений и заражения. Между эндофитными грибами и высшими растениями эволюционно сложились мутуалистические взаимоотношения, при этом растения обеспечивают гриб питанием и стабильной средой обитания. Эндофиты со своей стороны выделяют различные метаболиты, влияющие положительно на жизнь и функционирование растения. Ассоциации «эндофит - растение» представляют прекрасную модель для исследования фундаментальных проблем симбиоза. В связи с этим исследование системы «эндофит - растение» в малоизученных регионах земного шара вызывает особый научный и практический интерес для понимания симбиотического склада взаимоотношений между микро- и макроорганизмами в различных климатических природных условиях. С другой стороны выявление новых видов эндофитных грибов внесёт значительный вклад в изучение биологического разнообразия микроскопических грибов, а также в получении продуцентов новых биологически активных соединений для применения их в сельскохозяйственной биотехнологии и фармакологии. В последние годы внимание ученых всего мира привлекают выделяемые эндофитными грибами биологически активные соединения (алкалоиды, эргоалкалоиды), которые становятся незаменимыми для лечения ряда опасных заболеваний человека, в том числе туберкулеза, СПИДА и других.

Кыргызстан представляет собой малоизученный регион земного шара в отношении микробиологического, в том числе микологического разнообразия. В природе Кыргызстана сосредоточены больше 22 различных экосистем, среди них высокогорные альпийские луга, высокогорные степи, высокогорные пустыни, горные озера и реки, арчовые, тугайные и широколиственные леса и т.д. Эти экосистемы являются местообитанием для различных видов высших растений и ассоциированных с ними эндофитных грибов, биоразнообразие, экология и биология которых остаются практически не изученными.

Вместе с тем, целесообразность поиска новых штаммов эндофитных грибов как источников новых активных соединений остается научно необоснованной и почти неизученной, что определяет актуальность данных исследований.

Связь темы диссертации с научными программами. Работа выполнена в рамках научного проекта: «International Cooperative Biodiversity Groups» U01 TW006674 (Кыргызстан-США, 2004-2008гг).

Цель и задачи исследования. Целью работы являлось изучение биоразнообразия, биологии и экологии эндофитных грибов высших растений Кыргызстана и выявление полезных биологических свойств выделенных изолятов.

Исходя из этого, перед нами были поставлены следующие задачи:

1. поиск и выделение культур эндофитных грибов из органов высших растений, собранных в разных ботанико-географических регионах республики;
2. изучение морфологических, физиологических и биохимических свойств выделенных изолятов и их идентификация;
3. характеристика видовой структуры эндофитных грибов, ассоциированных с разными органами растений, в зависимости от климатических условий и вертикальной поясности местности;
4. определение биологических свойств выделенных культур эндофитных грибов в лабораторных и полупроизводственных условиях на наличие в них активных соединений;
5. оптимизация состава питательных сред и технических условий для длительного поддержания отобранных культур эндофитных грибов в рабочей коллекции.

Научная новизна полученных результатов. Впервые в условиях Кыргызстана были проведены исследования по выявлению видового биоразнообразия эндофитных грибов - симбионтов высших растений, обитающих в разных климатических условиях по вертикальной поясности местностей. Изучены биологические свойства, распространение и экологические особенности полученных изолятов. Идентифицированы 50 видов эндофитных грибов из высших растений Кыргызстана, из них 4 вида являются новыми. Проведен анализ распределения культур эндофитных грибов по разным органам растений, их распространения и встречаемости по ботанико-географическим зонам разных регионов республики. Установлена зависимость симбиотического существования эндофитных грибов в организме высших растений в зависимости от экологических факторов: температуры, влажности, густоты травостоя. Впервые изучен биотехнологический потенциал выделенных культур эндофитных грибов, связанных с разными видами высших растений Кыргызстана.

Практическая значимость полученных результатов. На основе полученных данных обобщены сведения о таксономическом составе эндофитных грибов по разным ботанико-географическим регионам Кыргызстана. Получены новые данные о широком распространении эндофитных грибов в природе Кыргызстана. Результаты исследований вносят важный научно-практический вклад в развитие микологии в Кыргызстане, а также в решение проблем биоразнообразия, систематики, биогеографии и экологии микромицетов и могут быть применены при мониторинге окружающей среды. Материалы дополняют сведения о биолого-экологических особенностях симбионтов растений - эндофитных грибов и могут быть использованы при составлении определителей, атласов с микрокартинами. Создана лабораторная коллекция эндофитных грибов с биологически активными свойствами. Активные штаммы могут быть применены в фармакологии, медицине и сельском хозяйстве.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. таксономический, биоморфологический и биоэкологический анализ разнообразия культур эндофитных грибов высших растений Кыргызстана;
2. распространение и симбиотическая связь эндофитных грибов с различными органами высших растений;
3. степень распределения и локализации видов эндофитных грибов в растениях в зависимости от ботанико-географических зон и вертикальной поясности регионов;
4. целесообразность изыскания и отбора новых активных изолятов эндофитных грибов для биотехнологических применений;
5. оптимизация технологии хранения и длительного поддержания культур эндофитных грибов в лабораторной и рабочей коллекциях.

Личный вклад соискателя. Все основные экспериментальные исследования и полученные результаты работы выполнены автором при участии научного руководителя.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты исследований доложены на международной научно-практической конференции «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия» (Иссык-Куль, 2007); на научном семинаре «Современное состояние изученности и сохранения биоразнообразия Кыргызстана» (Бишкек, 2007); на международной научно-практической конференции «Биосферные территории Центральной Азии как природное наследие» (Бишкек, 2009); на международной научно-практической конференции «Современные достижения естественных наук в решении проблем биопродуктивности горных экосистем» (Бишкек, 2010); на

международной научно-практической конференции «Биология - наука XXI века» (Москва-Пушино, 2010).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По результатам исследования опубликовано 16 статей.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 156 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 5 глав, выводов, списка использованной литературы. Работа содержит 61 рисунок, 19 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. История изучения эндофитных грибов. В первой главе диссертационной работы даны сведения об истории развития учения об эндофитных грибах в Кыргызстане и за рубежом.

Глава 2. Материалы и методы исследования. Для изучения экологии, встречаемости и распространенности эндофитных грибов были исследованы высшие растения из разных ботанико-географических регионов Кыргызстана.

Выделение чистых культур эндофитных грибов. В лабораторных условиях для получения колоний и чистых культур эндофитных грибов были использованы все части растений: стебли, корни, листья, соцветия и семена.

Морфология грибов, фенотипическая характеристика. Изучение морфологических и физиолого-биохимических характеристик проводили, руководствуясь общей стратегией фенотипической дифференциации, описанной в руководствах: «Систематика грибов» (Н.П. Черепанова, 2005), «Основы микологии» (Л.В. Гарибова, 2005), «Микология сегодня» (Ю.Т. Дьяков, 2007), «Симбиоз с микроорганизмами - основа жизни растений» (Ф.Ю. Гельцер, 1990).

Идентификацию эндофитных грибов осуществляли по культурально-морфологическим признакам по соответствующим для конкретной систематической группы определителям (М.А. Литвинов, 1967; Флора споровых растений Казахстана, 1956; М.В. Ellis, 1959; В.С. Sutton, 1980; W. Julich, 1984; Н. Gams, 1964; J.E. Lange, 1983; И.А. Дудка, С.П. Вассер, 1987).

Морфометрические особенности мицелия и структуры спороношения грибов изучали с использованием микроскопа MEIJI Advanced Compound Microscope Model ML5500 и MEIJI Zoom Stereo Microscope Model EMZ-5TR-MA502-PBH (Япония), микрофотографии были выполнены с помощью MOTIC 2.0 Mega Pixel Digital Microscope Camera with Images 2000 Software Model MOTICAM 2000.

Культивирование. Для выделения первичных культур, а также для определения их физиологических потребностей к питательным веществам были использованы следующие среды: картофельно-декстрозный агар (КДА); пептонно-декстрозный агар (ПДА); крахмало-аммиачный агар (КАА); Среда

Чапека. Влияние температуры и состава питательной среды на рост и биологическую активность эндофитных грибов исследовали у 20 выделенных изолятов. При изучении биохимических свойств штаммов использовали набор углеводов: глюкоза, арабиноза, мальтоза, D-маннит, сахароза, D-галактоза, манноза и источник азота. Для определения потребностей изолятов к температурному фактору их выращивали на следующих режимах: 4°C; 26-27°C; 40°C.

Изучение биологической активности штаммов эндофитных грибов. Антагонистические свойства штаммов изучали посевом культур методом перпендикулярных штрихов и агаровых блочков на средах МПА, Чапека. Активность определялась по размерам зоны угнетения роста тест/объектов, в мм (Н.С. Егоров, 1986).

Для изучения фиторегуляторной активности эндофитных грибов в отношении роста, развития и формирования генеративных органов были использованы семена и всходы пшеницы и ячменя. Определяли морфометрические характеристики проростков пшеницы и ячменя после обработки семян в растворе эндофитных грибов с концентрацией 0,5% и 1%. Контролем послужили семена, замоченные в воде.

Глава 3. Экология и распространение эндофитных грибов. В течение 2004-2008 годов были проведены целенаправленные исследования по выделению эндофитных грибов из органов высших растений, произрастающих в разных регионах Кыргызстана. Всего было проанализировано 865 растительных образцов, из них у 330 растений был обнаружен рост эндофитных грибов, выделены 512 изолятов, из которых у 20 были изучены фенотипические, хемотаксономические, морфометрические, физиологические и биологические свойства.

Распространение эндофитных грибов в растительности Северного Кыргызстана. Основное количество гербарных материалов было собрано в урочище Чон-Курчак, ущелье Ала-Арча, в сёлах Арашан и Татыр, остальная часть материалов была собрана в окрестностях Чуйской долины.

Проведенные исследования дают основание полагать, что растительность Северного Кыргызстана отличается богатым видовым разнообразием эндофитных грибов. Растения данной экосистемы, находясь в эволюционно сложившихся симбиотических взаимоотношениях с гифальными грибами, являются их естественными резервуарами и носителями в своих органах. Наиболее благоприятными для развития культур эндофитных грибов являются климатические условия предгорья и среднегорья, менее благоприятной является зона выше 1200-3000м н.у.м (с коротким вегетационным периодом и сравнительно суровым климатом). Среди обнаруженных культур эндофитных грибов доминантами были роды *Alternaria*, *Penicillium*, *Acremonium* и *Fusarium*.

Распространение эндофитных грибов в растительности Северо-Восточного Кыргызстана. Район наших исследований располагался в основном на юго-западе восточной части Иссык-Кульской котловины, включая равнинную часть побережья озера Иссык-Куль и горный хребет Терской Ала-Тоо. Видовое разнообразие эндофитных грибов, обнаруженное в растительности Северо-Восточного Кыргызстана было небогатым по сравнению с микрофлорой растительности Северного Кыргызстана (Чуйская долина). Наиболее обильный видовой состав грибов обнаружен в первом и втором поясах, что объясняется богатством и разнообразием растительного покрова (1-й пояс - предгорья; 2-й пояс - средние горы, где произрастают злаково-разнотравные луга и луговые степи, кустарниковые заросли и еловые леса). Для первого пояса характерны представители родов *Penicillium*, *Acremonium*, *Alternaria*. В растениях второго пояса преобладают представители родов *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Papularia*, *Acremonium*. Количественный родовой и видовой состав эндофитных грибов в субальпийском поясе по сравнению с другими поясами резко падает. Здесь были выделены всего 5 изолятов эндофитных грибов.

Распространение эндофитных грибов в растительности Северо-Западного Кыргызстана. Видовое разнообразие выделенных культур эндофитных грибов в растительности Северо-Западного Кыргызстана было богаче, чем в Северо-Восточном (Иссык-Кульская котловина), и несколько беднее, чем в растительности Северного Кыргызстана (Чуйская долина). Всего были обнаружены 37 изолятов эндофитных грибов. Большинство из них было выделено в поясе сухих степей (1600-1900м н.у.м.), из таких растений как *Aconitum talassicum*, *Lonicera korolkovii*, *Juniperus zeravschanica*, *Vicia tenuifolia*, *Berberis oblonga*. Среди обнаруженных культур эндофитных грибов доминировали представители родов *Papularia*, *Fusarium*. Остальные роды были обнаружены в незначительном количестве.

Распространение эндофитных грибов в растительности Внутреннего Тянь-Шаня. В наших исследованиях гербарные образцы были собраны в местностях Тогуз-Тороуской, Средне-Нарынской впадин, в селе Казарман и в его окрестностях. Были проанализированы 85 растительных культур, из них у 45 был обнаружен рост эндофитных-гифальных грибов и были выделены 87 изолятов. Одни виды эндофитных грибов были приурочены к какому-то определенному поясу, например виды из родов *Acremonium*, *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Papularia*. Некоторые виды встречались во всех поясах: представители родов *Botrytis*, *Alternaria*, *Penicillium*.

В первом поясе (солянковыи пустыни, полынные и полынно-ковыльковые полупустыни и горные долины) доминировали представители родов *Alternaria*, *Botrytis*.

Во втором поясе - алтыган, полынно-ковыльковых полупустынь и полынно-типчаковых сухих степей - были обнаружены представители родов *Acremonium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Geotrihum*, всего было выделено 45 изолятов эндофитных грибов.

В третьем поясе - центрально-тяншанских среднетравных луговых степей в комплексе с растительностью обнажений каменисто-щебенистых склонов и алтыганой были выделены представители родов *Botrytis*, *Alternaria*, всего 10 изолятов. Исходя из этого, можно констатировать, что в условиях Центрального Тянь-Шаня наиболее благоприятным для развития эндофитных грибов является второй пояс, менее благоприятным - пояс выше 2500м н.у.м.

Распространение эндофитных грибов в растительности Юго-Западного Кыргызстана (Чаткальская, Алайская долины). В результате наших исследований, из растений Чаткальского хребта были выделены 66 изолятов эндофитных грибов. Из выявленных грибов доминирующими были представители рода *Aspergillus*, затем по численности субдоминантами были представители родов *Botrytis*, *Verticillium*; на третьей позиции по численности были темноокрашенные грибы родов *Cladosporium* и *Alternaria*. Встречаемость эндофитных грибов в семействах растений была неравномерная, часто они обнаруживались в таких растениях: *Xeranthemum longipapposum*, *Artemisia macrocephala* из семейства Asteraceae. Количественное и видовое распространение эндофитных грибов было относительно низким у растений *Thalictrum simplex*, *Ranunculus repens* из семейства Ranunculaceae. Всего из них были выделены 19 изолятов. Растения из семейства Fabaceae, Brassicaceae намного уступали по содержанию в своих органах эндофитных грибов.

Распределение культур эндофитных грибов в растительности Кетмень-Тюбинской котловины. Результаты проведенных исследований показали, что у растений семейства Lamiaceae чаще всего отмечена симбиотическая ассоциация с эндофитными грибами. Так, все исследованные растения, относящиеся к этому семейству, содержали в своих органах эндофитные грибы, затем следуют растения из семейства Asteraceae и Chenopodiaceae. Наиболее богатыми по количеству эндофитных грибов оказались растительные образцы, собранные в местности Тура-Кайын; так у растения *Mentha asiatica* были выявлены до 5 изолятов эндофитных грибов. Растительность Тура-Кайына была представлена полынно-карындызовыми разнотравными сообществами. Эндофитные грибы встречаются больше в разнотравных степях. В этих зонах было отмечено 15 изолятов эндофитов, наименьшее количество грибов было отмечено в растительности пустынной степи. В местности Кабылан, по-видимому, это связано с бедностью растительности в условиях жаркой пустыни. Были идентифицированы 12 видов микромицетов из родов: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Papularia*, *Botrytis*,

Penicillium, *Fusarium*, *Curvularia*, а также 3 новых для Кыргызстана вида. Представители рода *Acremonium* были преобладающими в растительности Толукской впадины.

Распределение эндофитных грибов в зависимости от вертикальной поясности. Проведенный анализ показал, что виды эндофитных грибов неравномерно распространены в заселяющихся растениях по вертикальной поясности. Например, из общей численности полученных изолятов, 40% эндофитных грибов были выделены в зоне между 1601-2085 м н.у.м, 32% - между 636 и 814м, 20% - между высотой 1085 и 1540 м, и всего 8 % - на высоте 2530-3284м н.у.м. В поясах между 1500 и 2565 м н.у.м. видовой состав растительности представлен богаче и разнообразнее, чем в низинных и нивальных поясах. Отмечены представители родов *Fuzarium*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Monilia*, *Rhizoctonia*, *Papularia*, *Botrytis*, *Stemphylium* и другие. Характерными для среднегорья были *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium*. Многие исследователи отмечают, что наиболее бедны микромицетами высокогорные области, а наиболее богаты предгорные и горные районы, что объясняется благоприятными экологическими условиями и многообразием питающих растений (М.Г. Таслахчян, С.Г. Наногюлян, 1996).

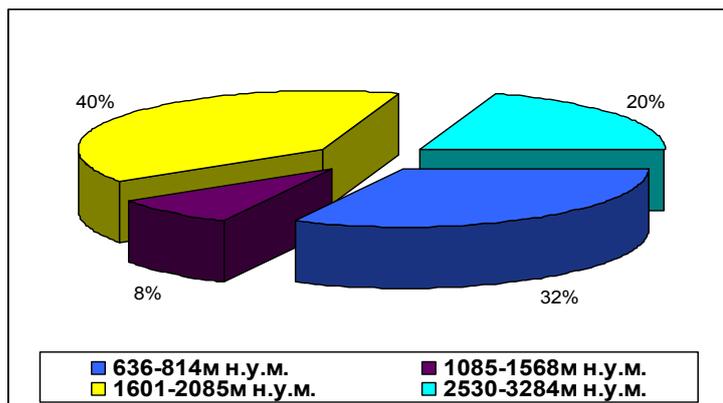


Рис. 3.1. Распределение эндофитных грибов в зависимости от вертикальной поясности.

Наши результаты также подтвердили данные других авторов, что наименьшее количество эндофитных грибов было выделено в высокогорном поясе, где высокая интенсивность солнечного освещения, низкие ночные температуры и постоянные ветры, что по-видимому, неблагоприятно сказывается на формировании флоры симбиотических грибов. Представителями этого пояса являлись грибы из рода *Alternaria* с темноокрашенными конидиями. Также были обнаружены виды родов *Penicillium* и *Fusarium*.

Распределение эндофитных грибов в семействах растений. Анализированные гербарные образцы были отнесены к 53 семействам

растений. Как показывают данные рис.3.2, распределение эндофитных грибов в пределах семейства растений было неравномерным. Так, например, наибольшее количество эндофитных грибов было выявлено в семействе Asteraceae - 81 штамм, на второй позиции по количеству выявленных эндофитов стоит семейство Fabaceae - 40 штаммов, затем Lamiaceae - 34 штамма, Brassicaceae - 31 штамм эндофитных культур. У растений из семейства Asteraceae отмечено богатое разнообразие видов эндофитных грибов, представленные родами *Alternaria*, *Papularia*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Curvularia*; у семейства Fabaceae отмечен рост *Acremonium*, *Penicillium*; у растений семейства Lamiaceae чаще обнаруживались грибы рода *Papularia*, *Botrytis*; у семейства Brassicaceae были выявлены *Penicillium*, *Acremonium*, *Fusarium*.

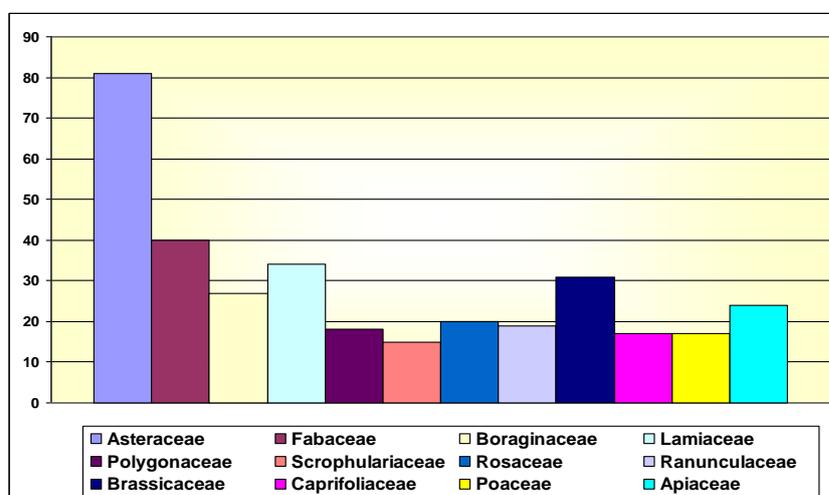


Рис. 3.2. Крупнейшие семейства растений, содержащие в своих органах эндофитные грибы.

Количество грибов, обнаруженных в разных видах растений, значительно варьировалось. Анализ распределения микромицетов по семействам питающих растений позволил выявить группы растений с различной степенью заселенности. Наибольшее количество видов (10 и более) микромицетов были зарегистрированы на растениях из 17 семейств: Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Rosaceae, Apiaceae, Boraginaceae, Scrophulariaceae, Brassicaceae, Caprifoliaceae, Liliaceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Ranunculaceae, Polygonaceae, Euphorbiaceae.

Распределение эндофитных грибов по органам растений. Как показали наши исследования, эндофитные грибы были обнаружены во всех органах и тканях растительных образцов. У некоторых видов растений эндофиты обитают в их корнях, у других - в стеблях, листьях или соцветиях.

В ходе наших исследований были получены изоляты: из корней - 172, из листьев - 110, из стеблей - 147, из цветов - 50, из соцветий - 12, из плодов - 18, из семян - 3. Как показано на диаграмме (рис.3.3.), излюбленным местом

обитания грибов в организме высших растений является корень, затем стебли и листья, тогда как соцветия, плоды и семена растений эндофитными грибами заселяются редко.

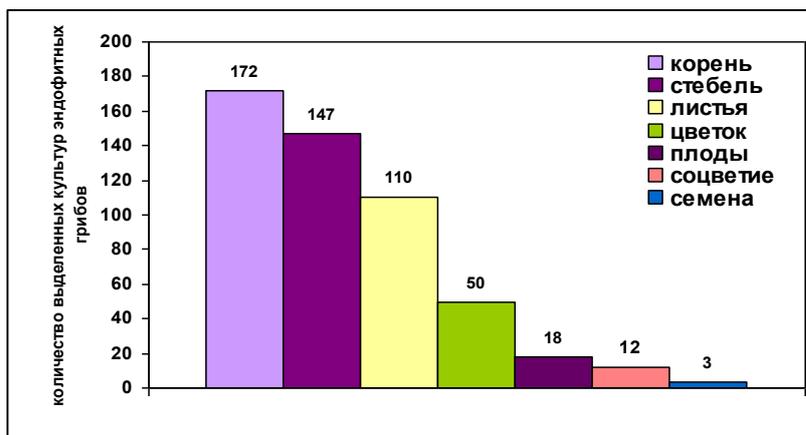


Рис.3.3. Распределение культуры эндофитных грибов по разным органам растений.

Преобладающая заселенность корней эндофитными грибами объясняется тем, что растение пропитывает ризосферу своими корневыми выделениями, содержащими различные энергетические вещества, представляющие прекрасный питательный субстрат для развития грибов.

Глава 4. Фенотипическая характеристика выделенных штаммов эндофитных грибов. Из выделенных 512 изолятов эндофитных грибов у 20 штаммов были изучены морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства.

Влияние температуры на рост и биологическую активность культур эндофитных грибов. На рост и развитие микроорганизмов и образование ими вторичных метаболитов большое влияние оказывают температура, аэрация, свет, реакция среды, влажность и наличие источников питания.

В наших исследованиях было установлено, что 82% полученных культур эндофитных грибов не были способны расти при температуре 4°C, однако в процессе инкубации при 27°C рост мицелия возобновлялся. Всего 19 культур дали рост при 4°C. Все исследуемые штаммы росли при 12°C очень медленно по сравнению с другими температурными пределами. При 27°C большинство штаммов росло со скоростью 8-10 мм/сутки. Так, оптимальной для роста большинства изучаемых штаммов являлась температура 27°C, для остальных - 12°C. Всего 10 штаммов дали рост при температуре 40°C (рис.4.1.).

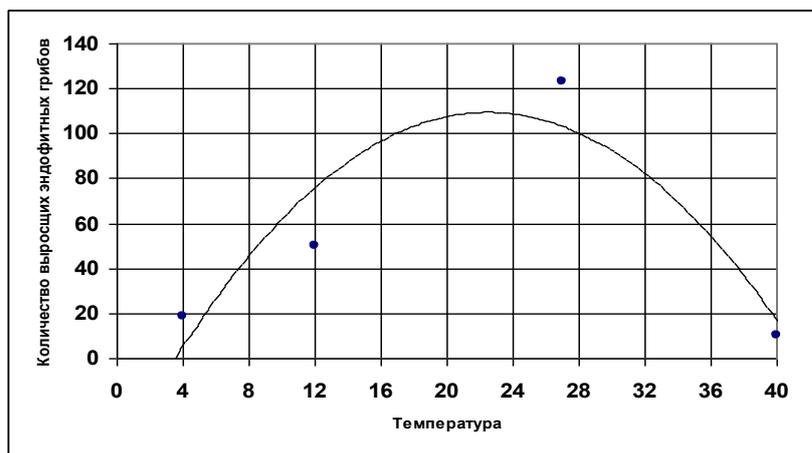


Рис.4.1. Влияние температуры на рост и развитие штаммов эндофитных грибов.

Большинство выявленных видов эндофитных грибов является мезофилами, приспособленными к существованию при средних температурных режимах. Обнаружены и истинные психрофилы, развивающиеся при 4°C, а также психротрофы, более приспособленные к колебаниям температур, медленно развивающиеся при 12°C. Полученные данные показывают, что, изменение температуры оказывает влияние на симбиотическое существование эндофитных грибов с растениями. Оптимальной средой для роста и проявления наилучшей симбиотической жизни и биологической активности изучаемых культур является температура 25-27°C.

Физиолого-биохимические свойства. Изучено влияние ряда источников углерода и азота на жизненную активность эндофитных грибов. Интенсивность роста культур и характер накопления биомассы свидетельствуют о разном уровне усвоения изученных источников питания, что обусловлено различной ферментативной активностью штаммов. Все штаммы хорошо усваивают глюкозу, маннозу, сахарозу; слабее усваивают галактозу, арабинозу; все штаммы хорошо усваивают KNO_3 , $NaNO_3$, пептон, слабо усваивают $NaNO_2$. Полученные результаты дают основание полагать, что среди выделенных штаммов большинство видов обладает смешанным набором ферментов – сахаролитической, протеолитической и, возможно, целлюлолитической активности.

Влияние состава питательных сред на рост и биологическую активность штаммов эндофитных грибов. Были изучены особенности физиологических потребностей изолятов к питательным субстратам и сравнение роста культур эндофитных грибов на разных твердых питательных средах: картофельно-декстрозный агар (КДА); пептонно-декстрозный агар (ПДА); крахмало-аммиачный агар (КАА); Среда Чапека. Длительность мицелийобразования исследованных видов эндофитных грибов на различных питательных средах приведена на рис. 4.2.

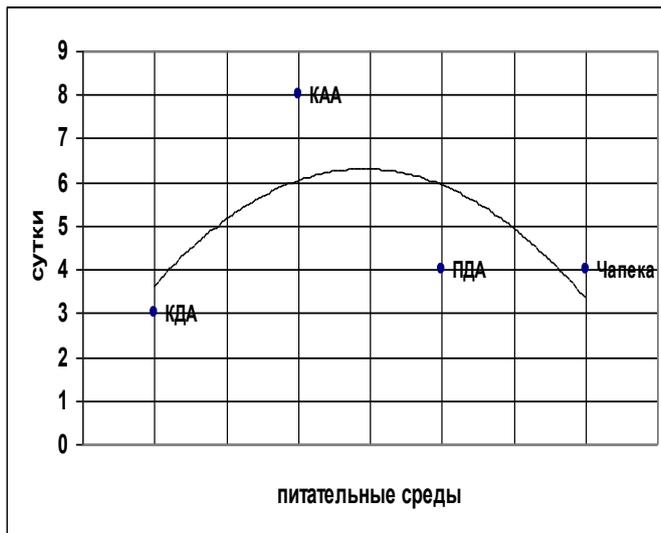


Рис.4.2. Мицелийобразование эндофитных грибов.

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что необработанный картофель может использоваться в качестве питательных субстратов как дешёвая микробиологическая среда для культивирования эндофитных грибов, которая отвечает всем пищевым требованиям гриба данной группы и является альтернативой дорогостоящим компонентам. На среде КДА отмечалось наибольшее накопление биомассы,

она пригодна и для длительного хранения культур, когда сохраняются ценные культуральные свойства штаммов. В отличие от других питательных сред, здесь наблюдается выделение пигмента в субстрат и обильный рост культур эндофитов. Среда КАА по своим питательным свойствам значительно уступает картофельному агару.

Таксономический анализ эндофитных грибов. Систематическая структура микобиоты эндофитных грибов, выявленных у высших растений Кыргызстана, включает 1 класс, 1 порядок, 4 семейства и 23 рода. Из них семейство *Moniliaceae* самое многочисленное, которое представлено 12 родами, 4 вида которых отмечены как новым. Наиболее богатым в видовом отношении является род *Penicillium* (*Penicillium notatum*, *Penicillium chatkalicum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium cyclopium*). Следующим родом, характеризующимся большим количеством представителей, является род *Trichoderma* (*Trichoderma viride* и *Trichoderma sp.*). Роды *Trichoderma* и *Acremonium* насчитывали по 2 вида и составляли 4 % от общего количества выявленных видов грибов. Остальные 8 родов включали по одному виду и составили, соответственно, 2%.

Как показали исследования (рис.4.3.), количественное соотношение обнаруженных семейств эндофитных грибов высших растений сильно колебалось.

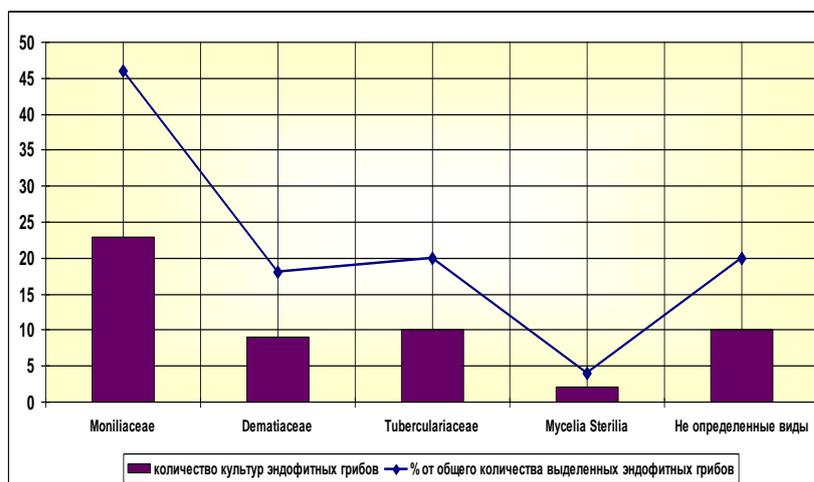


Рис. 4.3. Количественное соотношение семейств эндофитных грибов.

Так, представители семейства Moniliaceae составили 46% от общего количества выделенных видов. Виды семейства Dematiaceae составили 18%. Представители семейства Tuberculariaceae составили 20%. Mycelia Sterila - 4%. Тогда как еще неидентифицированные виды составили 20% от общего количества выделенных видов эндофитных грибов.

Глава 5. Изучение биологической активности выделенных штаммов.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмы, в том числе микромицеты, выделенные из высших растений, вырабатывают разнообразные соединения, имеющие важное значение для жизни высших организмов - человека, растений, животных и других микроорганизмов. Органические вещества разнообразной химической природы, выделенные микроорганизмами, обладают активностью в очень малых концентрациях (0,001—0,0001 мкг/мл) и большой специфичностью действия. Часть из них является регулятором роста растений: ауксины, цитокинины, гиббереллины. А также содержат физиологически активные вещества: ферменты, витамины, аминокислоты, антибиотики, пуриновые и пиримидиновые основания, гормоны, токсины и др.

Антагонистические свойства выделенных культур эндофитных грибов. В лабораторных условиях были проведены исследования по отбору наиболее активных штаммов эндофитов с антагонистическими свойствами, которые предварительно испытывались в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий. Наиболее активные штаммы были испытаны по отношению к тест/культурам: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Среди грибов, изолированных из растений, обнаружены как культуры, обладающие широким спектром действия, так и избирательно подавляющие рост лишь единичных тест/культур (табл.5.1.).

Таблица 5.1 – Оценка антагонистической и гиперпаразитической активности штаммов эндофитных грибов

Лабораторный номер штамма	Радиус зоны лизиса, мм				Ингибирование роста патогена через 5 суток, %				Внешний вид колонии патогена			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Neu-13	-	1±0,2	-	2±0,6	0	10	0	20	Б	В	Б	Б
Cur-6	5±0,3	4±0,5	6±0,5	1±0,4	30	20	50	10	В	Б	А	Б
Acr-174	3±0,8	1±0,4	1±0,2	2±0,1	40	20	10	20	Г	Г	Г	Г
Pen-97	3±1	7±0,4	9±0,2	13±0,6	70	60	80	90	А	А	А	А
Ch-127	3±0,5	3±0,5	1±0,3	-	30	30	10	0	Б	Б	В	В
Pen-13	7±0,3	3±0,4	4±0,4	-	50	40	40	0	Б	А	Б	В
Clad-140	1±0,2	-	1±0,4	-	20	0	10	0	В	В	В	В
As-27	1±0,3	1±0,1	-	1±0,3	10	10	0	10	В	В	В	В
Pau-133	4±0,7	1±0,3	2±0,3	3±0,2	20	10	20	30	В	В	Б	Б
Acr-153	9±0,2	7±0,2	-	-	60	50	10	10	А	Б	В	В

Примечание: «-» - тест-культура устойчива к культуре антагониста; А – патогенная культура угнетена в сильной степени; Б - слабое угнетение патогенной культуры; В – патогенная культура не угнетена; Г – гиперпаразитизм в отношении патогенной культуры.

Выделенный нами штамм Pen-97 из рода *Penicillium*, активно подавлял развитие всех исследуемых тест/культур. Биологическая активность штамма проявлялась в двух формах. При появлении первой рост патогена временно сдерживался, затем зона отсутствия роста постепенно зарастала. Вторая форма проявления антагонистической активности выразилась в подавлении развития патогена, зона лизиса составила от 7 до 13 мм, затем наблюдался заметный гиперпаразитизм.

Полученные данные позволяют сделать вывод, о том, что штамм Pen-97 (*Penicillium sp.*) обладает широким спектром антимикробной активности,

проявляет сильное ингибирование роста всех исследуемых тест/культур-патогенов. Грибы рода *Penicillium* известны как продуценты 380 вторичных метаболитов, обладающих биологической активностью в отношении многих видов бактерий (М.М. Dreyfuss, I.H. Chapela, 1994).

Исходя из полученных результатов, мы можем охарактеризовать взаимодействие штаммов эндофитных грибов с патогенными тест/культурами следующим образом: штамм Pen-97 (*Penicillium sp.*) активно продуцирует противомикробные вещества, которые вызывают зоны лизиса у тест/культур; а

штаммы Acr-174 (*Acremonium charticola*) и Acr-160 (*Acremonium sp.*) проявляли гиперпаразитизм, штамм Acr-153 проявил гиперпаразитизм средней активности; а культуры Ch-127 (*Chaetomium sp.*), Cur-6 (*Curvularia geniculata*), Pau-133 (*Papularia sphaerosperma*) – были среднеактивными по действию выделяемых ими биологических веществ. Культура эндофитного гриба - Pen-97 (*Penicillium sp.*) представляет определенный интерес для использования её как продуцента биопрепаратов, имеющих применение в области медицины и фармакологии, когда резистентность патогенных культур к существующим антибиотикам растёт с каждым днем.

Определение фиторегуляторной активности штаммов эндофитных грибов в отношении зерновых сельскохозяйственных культур. Большое влияние на рост и развитие растений оказывают микроорганизмы - ростстимуляторы. Продукты их жизнедеятельности способны усиливать обмен веществ, увеличивать всхожесть семян, ускорять развитие, повышать накопление запасных веществ и влиять на характер биохимических процессов. Проведены испытания по обработке семян зерновых культур - пшеницы и ячменя путём замачивания их в фильтрате культуральной жидкости штаммов T-18 (*Trichoderma viride*) и Acr-153 (*Acremonium sclerotigenum*) в концентрации 10^{-5} (1%) и 10^{-3} (0,5%). Время замачивания семян - 3 часа. Контрольные варианты семян замачивали в дистиллированной воде. Полученные данные представлены в таб.5.2.

Таблица 5.2 - Проявление фиторегуляторной активности эндофитных грибов на морфологических параметрах пшеницы и ячменя

№	Испытуемые штаммы и концентрация их суспензии	Всхожесть семян на 4 сутки, %	Длина надземной части на 7 сутки, мм	Длина корневой системы на 7 сутки, мм	Сухая биомасса через 10 суток, г	Сырая биомасса через 10 суток, г
Пшеница						
1.	T-18 1,0%	100	26 ± 0,68	12 ± 1,188	2,6 ± 0,237	5,38 ± 0,43
2.	Acr-153 1,0 %	90	23 ± 0,73	8 ± 0,45	1,5 ± 0,173	3,42 ± 0,24
3.	Контроль	80	21 ± 0,66	9 ± 0,52	1,2 ± 0,154	4,0 ± 0,23
Ячмень						
4.	T-18 0,5%	95	13.3 ± 1,580	10 ± 0,58	2 ± 0,193	6,43 ± 0,23
5.	Acr-153 0,5%	75	9.18 ± 0,52	11 ± 0,616	1,5 ± 0,168	4,71 ± 0,137
6.	Контроль	75	6.75 ± 0,45	6 ± 0,64	1,5 ± 0,170	3,215 ± 0,122

Из данных табл. 5.2. видно, что при предпосевной обработке семян всхожесть возрастала до 30% в зависимости от тест/объекта, удлинение стеблей доходило до 39%, корней - до 44% по сравнению с контролем. Показано, что

предпосевная обработка семян культуральной жидкостью Т-18 (*Trichoderma viride*) увеличивает энергию прорастания, полевую всхожесть семян. В результате исследований были отобраны 2 штамма эндофитных грибов как продуценты ростстимулирующих активных соединений для применения их в сельском хозяйстве в целях повышения урожая сельхозкультур.

ВЫВОДЫ

1. Установлено широкое распространение эндофитных грибов в различных ботанико-географических регионах Кыргызстана. Растительность Северного Кыргызстана по сравнению с другими регионами характеризуется богатым биоразнообразием эндофитных грибов.
2. Выявлено закономерное распределение эндофитных грибов по вертикальной поясности исследуемой местности. Наиболее благоприятным местообитанием для симбиотического существования эндофитных грибов и высших растений является зона предгорья и среднегорья, менее благоприятной зоной - высокогорный пояс.
3. Достаточно благоприятным местообитанием в организме высших растений для этих грибов является корневая система, затем стебли и листья, тогда как в ткани соцветий и в семена растений эндофитные грибы заселяются редко.
4. Большинство выявленных видов эндофитных грибов является мезофилами, приспособленными к существованию при средних температурных режимах. Обнаружены и истинные психрофилы, развивающиеся при температуре 4°C, а также психротрофы, более приспособленные к колебаниям температур, медленно развивающиеся при 12°C.
5. Установлен наиболее эффективный состав питательной среды для поверхностного культивирования эндофитных грибов, обеспечивающий максимальный выход биологически активных метаболитов. Наиболее эффективные условия для культивирования эндофитных грибов: температура роста (26±1)°C, диапазон значения pH 5.5-6.0.
6. Отобраны два штамма эндофитных грибов (рода *Penicillium*) с высокой антагонистической активностью в отношении патогенных бактерий, которые могут быть рекомендованы для дальнейших медико-биологических исследований с целью разработки на их основе новых лекарственных биопрепаратов в фармакологической биотехнологии.
7. Отобраны два штамма эндофитных грибов (*Trichoderma viride* и *Acremonium sclerotigenum*) как продуцентов стимулирующих рост активных соединений для применения их в сельском хозяйстве для повышения урожая сельхозкультур.

Практические предложение по использованию результатов диссертационной работы

Полученные результаты исследования будут использованы в сельскохозяйственной биотехнологии. Штамм эндофитного гриба *Trichoderma viride* оказывает ростстимулирующую активность на всхожесть семян и усиливает рост всходов и молодых растений пшеницы, и ячменя, обеспечивая им устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. Данный штамм в перспективе может быть рекомендован для создания микробного препарата, имеющий применение в сельском хозяйстве для повышения урожая зерновых культур. Установлена активная доза штамма *Trichoderma viride* Т-18 в концентрации 10^{-5} и 10^{-3} спор/мл, оказывающей высокую ростстимулирующую активность на семян и всходов зерновых культур. Материалы исследований могут быть рекомендованы для дальнейших медико-биологических исследований с целью разработки проведения лекарственных биопрепаратов в фармакологической биотехнологии и для повышения урожая сельхозкультур в сельском хозяйстве.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Доолоткельдиева Т.Д. Распространение и встречаемость эндофитных грибов в условиях Кыргызстана [Текст] /Т.Д. Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева, С.Т. Бобушова //Вестник КНУ им. Ж. Баласагына. – Бишкек, 2006. – №3. – С. 244-249.
2. Бобушова С.Т. Биоразнообразие эндофитных грибов высших растений Кыргызстана [Текст] /С.Т. Бобушова, Т.Д. Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева// Сб. матер. Междунар. конф. «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия». – Бишкек, 2007. – С.255-257.
3. Доолоткельдиева Т.Д. Почвенные микромицеты родов *Aspergillus* и *Penicillium* как источники ферментов для пищевой промышленности [Текст] /Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, Ч.М. Омургазиева // Сб. матер. Междунар. конф. «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия». – Бишкек, 2007. – №2. – С. 123-126.
4. Бобушова С.Т. Эндофитные грибы – симбионты высших растений различных экосистем Кыргызстана [Текст] / С.Т. Бобушова, Т.Д. Доолоткельдиева //Журнал естественных наук, КТУ «Манас». – Бишкек, 2008. – №9. – С. 1-9.
5. Бобушова С.Т. Эндофитные грибы в растительности, произрастающей в Толукской впадине Кетмень – Тюбинской котловины [Текст] /С.Т. Бобушова //Наука и новые технологии. – Бишкек, 2009. – №3. – С.55-60.

6. Бобушова С.Т. Влияние спор эндофитных грибов на рост пшеницы и ячменя [Текст] /С.Т. Бобушова// Сб. матер. Междунар. конф. «Биосферные территории Центральной Азии как природное наследие». – Бишкек, 2009. – С.166-169.
7. Способы глубинного и поверхностного культивирования штаммов микромицетов для повышения продукции фермента – амилазы [Текст] /[Т.Т. Доолоткельдиева, Ж. Исакова, Н.Э. Тотубаева, С.Т. Бобушова] //Наука и новые технологии. – Бишкек, 2009. – №3. – С.43-55.
8. Доолоткельдиева Т.Д. Использование ферментной биомассы сапротрофных микромицетов (β -глюконазы и амилаза) для улучшения качества хлеба [Текст] /Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, М.У. Конурбаева //Наука и новые технологии. – Бишкек, 2009. – №3. – С.215-222.
9. Бобушова С.Т. Биоразнообразии эндофитных грибов высших растений Кыргызстана [Текст] / С.Т. Бобушова //Журнал естественных наук, КТУ «Манас». – Бишкек, 2009. – №10. – С.45-47.
10. Бобушова С.Т. Распределение эндофитных грибов в зависимости от вертикальной поясности [Текст] / С.Т. Бобушова, Т.Д. Доолоткельдиева //Поиск. – Алма-Ата. – 2011. – №1. – 88-91.
11. Бобушова С.Т. Антагонистические свойства эндофитных грибов, выделенных из различных высших растений Кыргызстана [Текст] / С.Т. Бобушова //Известия вузов. – Бишкек, 2010. – №4. – С.36-40.
12. Бобушова С.Т. Распределение эндофитных грибов в зависимости от вертикальной поясности [Текст] /С.Т. Бобушова //Сб. матер. Междунар. научно-практическая конф. "Биология - наука XXI века". – Москва-Пушино, 2010. – С.243-244.
13. Бобушова С.Т. Фенотипическая характеристика эндофитных грибов [Текст] /С.Т. Бобушова //Известия вузов. – Бишкек, 2010. – №4. – С. 43-47.
14. Доолоткельдиева Т.Д. Микробиологическое разнообразие Кетмень - Тюбинской долины [Текст] /Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, М.У. Конурбаева // Вестник КНУ им. Ж. Баласагына, межд. практическая конф. «Современные достижения естественных наук в решении проблем биопродуктивности горных экосистем». – Бишкек, 2010. – №5. – С.21-27
15. Доолоткельдиева Т.Д. Микробиологическое разнообразие почвенных биотопов урочища Чон-Курчак [Текст] / Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова, Б.Ш. Бектурганова //Исследования живой природы. - Бишкек, 2011. - №2.- С. 10-20
16. Доолоткельдиева Т.Д. Скрининг активных целлюлозаразлагающих микромицетов [Текст] /Т.Д. Доолоткельдиева, С.Т. Бобушова//J.Microbiology Insights, Labertas Academica. – Новая Зеландия, 2011. – №4. – С.1-10.

Бобушова Сайкал Токтосуновнанын 03.02.01 – ботаника жана 03.02.03 – микробиология адистиктери боюнча «Кыргызстандын жогорку түзүлүштөгү өсүмдүктөрүндө жашаган эндофиттик козу карындар жана алардын биологиялык касиеттери» темасында биология илиминин кандидаты илимий даражасына изденүү диссертациясынын РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: эндофиттик козу карындар, жогорку түзүлүштөгү өсүмдүктөр менен симбиоздук байланыштар, антагонисттик активдүүлүк, буудайдын жана арпанын биостимулятору.

Изилдөөнүн объектиси: өсүмдүк үлгүлөрү, эндофиттик козу карындардын штаммдары.

Изилдөөнүн максаты: Кыргызстандын жогорку түзүлүштөгү өсүмдүктөрдөгү эндофиттик козу карындардын биотүрдүүлүгүн изилдөө жана алардын ичинен биологиялык активдүү штаммдарды табуу.

Изилдөөнүн ыкмасы: микробиологиялык, биохимиялык жана биотехнологиялык.

Алынган натыйжалар жана жанылыктар: Кыргызстандын шартында биринчи жолу эндофиттик козу карындардын биотүрдүүлүгү жогорку түзүлүштөгү өсүмдүктөрдүн симбионттору катары, ар түрдүү климаттык шарттарда жашай тургандыгы изилденди. Биологиялык касиеттери, таралышы жана алынган штаммдардын экологиялык өзгөчөлүктөрү изилденди. Жогорку түзүлүштөгү өсүмдүктөрдүн организмде симбиоздук жашоосунун экологиялык факторлорго көз карандылыгы аныкталды.

Практикалык мааниси: Айыл чарба өсүмдүктөрүнүн өсүүсүн тездетүүчү жана илдет козгогучтарга каршы антагонисттик касиеттерге ээ штаммдардын лабораториялык коллекциясы түзүлдү. Кишиге карата патогендүүлүк касиетке ээ болгон бактерияларга каршы жогорку антагонисттик активдүүлүк көрсөткөн эндофиттик козу карындардан (*Penicillium* уруусунан) эки штамм тандалды. Өсүүнү жөнгө салуучу касиетке ээ штаммдар (*Trichoderma viride* жана *Acremonium sclerotigenum*) табылды. Изилдөөнүн материалдарын айыл чарба культураларынын түшүмдүүлүгүн жогорулатуу үчүн айыл чарбада жана медициналык изилдөөлөрдө, фармакологиялык биотехнологияда жаны препараттарды алуу максатында колдонууга болот.

Колдонуу тармагы: микробиология, биотехнология, фармакология, систематика, биотүрдүүлүктү сактоо.

РЕЗЮМЕ

диссертации Бобушовой Сайкал Токтосуновны на тему «Эндوفитные грибы высших растений Кыргызстана и их биологические свойства» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.01 – ботаника и 03.02.03 – микробиология

Ключевые слова: эндوفитные грибы, симбиоз с высшими растениями, антагонистическая активность, биостимуляторы семян пшеницы и ячменя.

Объект исследования: растительные образцы, штаммы эндوفитных грибов.

Цель исследования: изучить биоразнообразие эндوفитных грибов высших растений Кыргызстана и выявить полезные биологические свойства выделенных изолятов.

Метод исследования: микробиологический, микологический, биохимический и биотехнологический.

Полученные результаты и их новизна: Впервые в условиях Кыргызстана были проведены исследования по выявлению видового биоразнообразия эндوفитных грибов - симбионтов высших растений, обитающих в разных климатических условиях по вертикальной поясности местностей. Впервые были изучены биологические свойства, распространение и экологические особенности полученных изолятов. Установлена зависимость симбиотического существования эндوفитных грибов в организме высших растений от экологических факторов: температуры, влажности, густоты травостоя.

Практическая значимость: Создана лабораторная коллекция штаммов эндوفитных грибов, обладающих ростостимулирующими, антагонистическими свойствами. Отобраны два штамма эндوفитных грибов (рода *Penicillium*) с высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным бактериям. Они могут быть рекомендованы для дальнейших медико-биологических исследований с целью разработки проведения лекарственных биопрепаратов в фармакологической биотехнологии. Отобраны два штамма эндوفитных грибов (*Trichoderma viride* и *Acremonium sclerotigenum*) как продуцентов ростстимулирующих активных соединений. Их можно использовать для повышения урожая сельхозкультур в сельском хозяйстве.

Область применения: микробиология, биотехнология, фармакология, систематика, сохранение биоразнообразия.

RESUME

Bobushova Saykal Toktosunovna «Endophytic fungi in higher plants in Kyrgyzstan and their biological properties» on competition of a scientific degree of Cand.Biol.Sci. on specialities: 03.02.01 - botany and 03.02.03 - microbiology

Key words: endophytic fungi, symbiosis with higher plants, antagonistic activity, biostimulators of wheat and barley seeds.

Object of research: plant samples, endophytic fungi strains.

Purpose of the research: to study the biodiversity of endophytic fungi of higher plants in Kyrgyzstan and to identify useful biological properties of isolates.

Research methods: microbiological, biochemical, mycological and biotechnological.

Findings and novelty: For the first time in Kyrgyzstan, studies were conducted to identify the species diversity of endophytic fungi - symbionts of higher plants found in different climatic conditions on the vertical zoning districts. The biological properties, distribution and ecological characteristics of the obtained isolates were studied. The dependence of the symbiotic existence of endophytic fungi in the body of higher plants in relation to environmental factors: temperature, humidity, density of grass was established.

Practical significance: A collection of laboratory strains of endophytic fungi with antibiotic and growth stimulating action was created. Two strains of endophytic fungi (the genus *Penicillium*) with high antagonistic activity against pathogenic bacteria were selected and two strains of endophytic fungi were selected as the producers of growth stimulating active compounds (*Trichoderma viride* and *Acremonium sclerotigenum*). The studies can be used to increase crop production in agriculture, and may be recommended for the future biomedical research to develop new medicines in the pharmaceutical biotechnology.

Field of application: microbiology, biotechnology, pharmacology, systematic, biodiversity conservation.



Подписано к печати 16.11.2012.
Тираж 100 экз. Формат бумаги 60x84/16. Объем 1,5 п.л. Заказ №70.

Отпечатано в типографии «Аят».
720014, г. Бишкек, ул. Ташкентская, 60

