

Биологиялық  
алуантүрлілікті  
сақтаудың өзекті  
мәселелері

Актуальные  
проблемы сохранения  
биологического  
разнообразия

Actual  
problems  
of biodiversity  
conservation

ӘОЖ 582.282.123

<sup>1</sup>Ж.Т. Абдрасулова\*, <sup>1</sup>Ж.Ж. Кожантаева, <sup>2</sup>А.С. Ньюсам,  
<sup>1</sup>Н.Н. Салыбекова, <sup>3</sup>А.Е. Сержанова

<sup>1</sup>Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университеті,  
Қазақстан Республикасы, Алматы қ.

<sup>2</sup>Миссисипи Валлей Мемлекеттік университеті, Итта Бена, МШ,

<sup>3</sup>Ахмет Ясауи атындағы халықаралық қазақ-түрік университеті,  
Қазақстан Республикасы, Түркістан қ.

\*E-mail: Zh.Abdassulova@mail.ru

### ***Aspergillus* туысы саңырауқұлақтарының биоэкологиялық ерекшеліктері**

Мақалада астық тұқымдастарын зақымдайтын *Aspergillus* туысына жататын саңырауқұлақтардың биологиялық және экологиялық ерекшеліктерінің нәтижелері берілген. Алматы облысының бес ауданынан (Талғар, Іле, Қарасай, Жамбыл, Панфилов) астықтардың тұқымдары жинап алынды. Оларда астықтардың сапасына әсер ететін саңырауқұлақ ауруларының қоздырғыштары *Aspergillus* туысының келесі топтарына жататын түрлері табылды: *A.flavus*, *A.tubingensis*, *A.glaucus*, *A.niger*, *A.fumigatus*, *A.candidus*, *A.ochraceus*.

**Түйін сөздер:** тұқым, *Aspergillus*, идентификация, морфология, фунгицид.

Zh.T. Abdassulova, Zh.Zh. Kuzhantaeva, N.N. Salybekova,  
A.S. Newsome, A.E. Serzhanova

### **Biological and ecological features fungi of the genus *Aspergillus***

The article presents research work on the biological and ecological features fungi of the genus *Aspergillus*, affecting seed crops. Were collected seeds of cereals five district (Talgarsky, Iliisky, Karasai, Zhambulsky, Panfilov) Almaty region. Were discovered these types of fungi: *A.flavus*, *A.tubingensis*, *A.glaucus*, *A.niger*, *A.fumigatus*, *A.candidus*, *A.ochraceus*.

**Key words:** grains, *Aspergillus*, identification, morphology, fungicide.

Ж.Т. Абдрасулова, Ж.Ж. Кожантаева, А.С. Ньюсам,  
Н.Н. Салыбекова, А.Е. Сержанова

### **Биоэкологические особенности грибов рода *Aspergillus***

В статье представлены материалы научно-исследовательских работ по биоэкологическим особенностям грибов рода *Aspergillus*, поражающих семена зерновых культур. Были собраны семена зерновых культур пяти районов (Талгарский, Илийский, Карасайский, Жамбулский, Панфиловский) Алматинской области. Были обнаружены такие виды грибов, как: *A.flavus*, *A.tubingensis*, *A.glaucus*, *A.niger*, *A.fumigatus*, *A.candidus*, *A.ochraceus*.

**Ключевые слова:** зерновые культуры, *Aspergillus*, идентификация, морфология, фунгицид.

Аспергилл туысының саңырауқұлақтарын алғаш рет 1729 жылы италияндық миколог П. Микели сипаттаған. Олар көп таралған гифомицеттердің бірі.

Қойма зеңдері астықтарды жинап алғаннан кейін, тасымалдау кезінде және қоймада сақтау кезінде зақымдайды.

*Aspergillus* туысының саңырауқұлақтары астық шығымын төмендетеді, дәннің түсін өзгертеді, ұрықтың тіршілігінің тоқтауына алып келеді, олардың метаболиттері көбіне адам, жануарлар және өсімдікке зиянды [1].

2013-2014 жылы Испанияның әртүрлі агроклиматтық облыстарынан шиенен бөлініп алынған және Аргентинаның әртүрлі аймақтарының жүзім егілетін топырақтарынан алынған *Aspergillus tubingensis* саңырауқұлағы зерттелді [2, 3].

Ауылшаруашылық дақылдарын зақымдайтын саңырауқұлақтармен күресу үшін фунгицидтерді қолданады.

Сыртқы дақылдық-морфологиялық белгілеріне сүйене отырып түрлерін анықтайтын классикалық әдістерін қолдану дәл нәтиже бермеуі мүмкін.

Қазіргі заман молекулалық әдістердің пайда болуымен саңырауқұлақтардың түрлері мен рассаларын дәл анықтауға мүмкіндік туып отыр.

Бұл жұмыстың мақсаты, саңырауқұлақтардың кейбір фунгицид түрлеріне тұрақтылығын, саңырауқұлақтардың өсуі мен дамуына температураның әсерін анықтау, морфологиялық-генетикалық сипаттарына қарай саңырауқұлақтардың түрлерін нақтылау болып табылады.

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Алматы облысының бес ауданының астық қоймаларынан (Талғар, Іле, Қарасай, Жамбыл, Панфилов) астықтардың тұқымдары жиналды. Жиналған тұқымдар ылғалды камерада қалдырылды. Петри табақшалары 21° С температурада ұсталынды. Өсуі мен дамуын күнделікті байқап отырдық. 7-ші тәулікте тұқымдарда саңырауқұлақтардың спораларының түзілуі байқала бастады. Саңырауқұлақтардың өсуімен спора түзу сипаты бойынша Наумова (1935), Литвинова (1967) анықтағыштарымен түрлері анықталды. Кейін осы анықталған саңырауқұлақ түрлерін әрі қарай зерттеулер жүргізу үшін Чапек және Сабур қоректік ортасы құйылған Петри табақшасына жеке-жеке отырғызылды.

Қойма зеңдерінің өсуін агарлы қоректік ортада 5°, 15°, 25° және 35° температурада әртүрдің

колониясының диаметрі көлеміне байланысты бағаланды (Билай, 1982).

Штаммдардың кейбір фунгицид түрлеріне тұрақтылығы зерттелді.

Келесі фунгицидті заттар қолданылды: купорос, фитоспорин, топаз.

Сабур және Чапек агарының бетіне зерттелетін дақылдың 1 мл суспензиясы құйылды. Шайқап отырып суспензияны барлық табақшадағы агар бетіне жайылды. Табақшаларды 30 мин бойы бөлме температурасында ұстап, кейін агарда бұрғылап шұңқыр салынады. Шұңқырлар зерттелетін фунгицидтермен толтырылды. Табақшаларды тағы да 30 минутқа бөлме температурасына ұсталынды, кейін оларды төңкеріп алмай 5 тәулікке 28°С температураға термостатқа қойылды. Аймақтың көлеміне қарап фунгицидті заттардың саңырауқұлаққа қарсы әсері айқындалды. Өсу аймағы 15 мм әлсіз сезімталдықты, 16-25 мм – айқын, 25 мм жоғары болса – жоғары сезімталдықты көрсетеді.

Мицелиялды саңырауқұлақтардан ДНҚ бөліп алу «ЦТАБ-хлороформ» протоколы бойынша жүргізілді [4]. Бөлме температурасында ашық пробиркаларда саңырауқұлақ екпесі 30 мин бойы кептіріліп 25 мкл ТЕ-буферінде ерітілді (10 mM tris-HCl, pH 7.4; 1 mM EDTA, pH 8.0) немесе 80% ДМСО.

Бета-тубулин генін амплификациялау үшін T1/T2 праймерлері, ITS-аймағы үшін рРНҚ 18 S гені аймағының қамтитын бөлігін, ішкі транскриптеуші спейсері 1 [ITS 1] ген 5,8 S рРНҚ гені, ішкі транскриптеуші спейсері 2 [ITS 2] және 28 S рРНҚ генінің бөлігі – ITS1/ITS4 [5] праймерлері қолданылды.

Амплификация C-1000 (Bio-Rad). термоциклерінде жүргізілді. (25 мкл реакциялық қоспада: 1 ед. Тақ-полимеразалар (Хеликон, Россия), 0,5 мкМ әр праймерлер, 200 мкМ дезоксинуклеотидтрифосфаттар, буфер (75 mM Tris-HCl (pH 8.8); 20 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.01% (v/v) Tween 20; 2 mM MgCl<sub>2</sub>)) Амплификация өнімі бромисті этидиямен боялған электрофоретикалық 1% агарозды гелде ыдыратылды. Электрофорез нәтижелері трансиллюминаторда көрсетіліп, кейін ампликондардың қажет ұзындығы оксид кремний оксиді ұнтағымен бөлініп алынды [6].

Секвенирлеуші ПТР BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, США) наборын қолдана отырып классикалық тізбекті үзу әдісімен жүргізілді [7].

Нуклеотидті бірізділік генетикалық анализаторда ABI PRISM 3500 (ABI-Hitachi, Жапония) анықталды. Алынған нуклеотидті бірізділік VectorNTI бағдарламасында өңделді.

Алынған нуклеотидтік бірізділікті BLASTn онлайн сервисін қолдана отырып GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ақпараттық базасымен салыстырылды. Салыстыру нәтижесінде штамдардың қай түрге жататыны туралы қорытынды жасалды.

Барлық алынған нуклеотидтік бірізділік Gen Bank ақпараттық базасына депонирленді. Идентификация нәтижесінде анықталған саңырауқұлақтардың аттарының өзектілігі, түрлердің дұрыс жазылуы Mucobank ақпараттық базасының номенклатурасы көмегімен тексерілді.

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Зерттеу нәтижесінде аспергиллус туысының келесі топтарына жататын түрлері табылды: *A.flavus*, *A.tubingensis*, *A.glaucus*, *A.niger*, *A.fumigatus*, *A.candidus*, *A.ochraceus*.

Олардың ішінде астық тұқымдастарында көп кездескен түрлеріне тоқталып кеттік.

*A.tubingensis* колониялары қызғылт-сұр, қызғылт-қоңыр түстен ақырындап қара түске өзгереді. Конидия сағағы 200-400x7-10 мкм, жоғарғы ауашығының диаметрі 20-60 мкм. Стеригмалары 3-қатарлы: біріншілік 20-30 мкм, екіншілік -6-10 мкм, конидилері дөңгелек, диаметрі 2,5-4 мкм.

*Aspergillus flavus* астық тұқымдастарының оппортунистік қоздырғышы болып табылады. Өйткені олар астық жинаудың алдында және астық жинаудан кейін де екінші реттік метоболит ретінде афлатоксин өндіреді. (Klich 2007).

Афлатоксин күшті канцероген болып табылады. Қолайлы жағдай туғанда кез келген қоймада сақталтын астық тұқымдарында өсе және афлатоксин өндіре алады. Қоймада сақтау кезінде *Aspergillus flavus* өсетін ылғалдылықтан төмен ылғалдықты сақтай отырып қадағалауға болады (Chiba et al., 2014).

Ауа колония мицелиі қара-жасыл, ал келесі ібеті сары түсті болып келеді. Ауа мицелилерінің шет жағы төсемшеленген. Конидий сағағы 300-1000x5-10 мкм, түссіз, төбелік ауашық алмұрт, шар тәрізді, диаметрі 20-50 мкм.

Фиалид конидилері бір клеткалы шар, жұмыртқа сирек алмұрт тәрізді, тегіс, түссіз немесе сәл сарғыш-көктеу диаметрі 3-5 мкм.

Сыртқы орта факторларының ішінде саңырауқұлақтарының тіршілігіне елеулі әсер ететіні – температура болып табылады. Саңырауқұлақтар арнайы бір температурада дамиды, әртүрлі саңырауқұлақтар үшін теператураларда әртүрлі болып келеді. Әр саңырауқұлақ үшін өздерінің дамуына қолайлы температураның үш шегі болады (кардиналды температура): оптималды, минималды және максималды.

Осылайша, минималды және максималды температурада саңырауқұлақтар баяу болса да тіршілігін жалғастыра алады (баяу өсуі және көбеюі), ал ол температурадан тыс өз тіршілігін тоқтатады. *Aspergillus* туысы саңырауқұлақтарының температура шегі 1-кестеде көрсетілген.

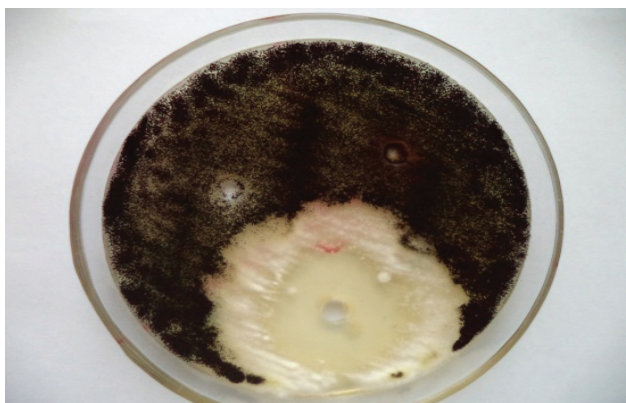
Саңырауқұлақтың тіршілік ету ортасына байланысты жоғарыда көрсетілген температуралар өзгеруі мүмкін.

### 1-кесте – *Aspergillus* туысының кейбір саңырауқұлақтарының кординалды температуралары

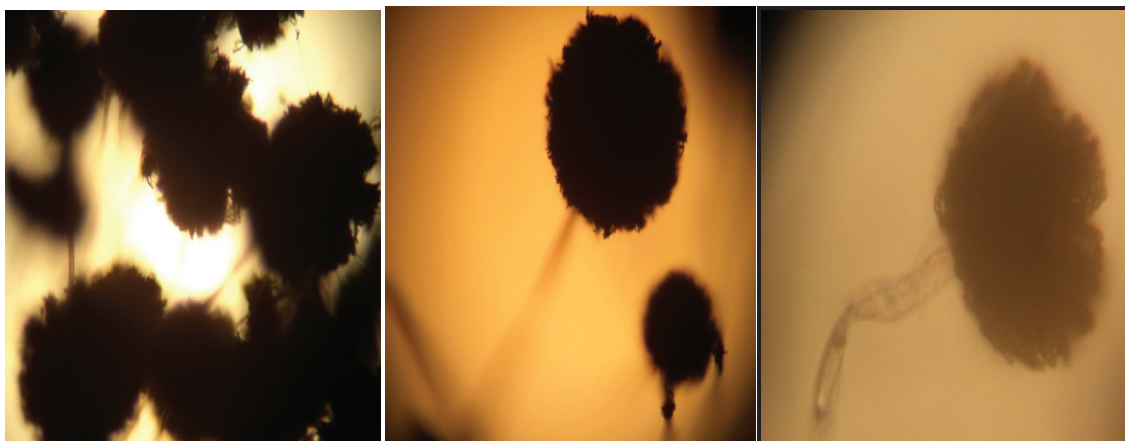
Саңырауқұлақ түрі	Температура, °C min	Температура, °C Оптимальды	Температура, °C max
<i>Aspergillus tubingensis</i>	-4 между -(+)4	15-25	30-45
<i>Aspergillus flavus</i>	-4 между -(+)4	17-28	35-47

### 2-кесте – *Aspergillus* туысының кейбір саңырауқұлақтарының фунгицидтерге тұрақтылығы

№	Саңырауқұлақ түрі	Сабуру ортасында тежелу аймағы		Чапек ортасында тежелу аймағы	
		Фитоспорин	Топаз	Фитоспорин	Топаз
1	<i>Aspergillus tubingensis</i> Moss-eray.	купорос	0	купорос	0
		фитоспорин	0	фитоспорин	0
		Топаз	20-26мм	топаз	18-20мм
2	<i>Aspergillus flavus</i> Link.	Купорос	0	купорос	0
		фитоспорин	0	фитоспорин	0
		Топаз	0	топаз	0



1-сурет – Чапек коректік ортада *Aspergillus tubingensis* Mosseray саңырауқұлағының тежелу аймағы



2-сурет – *Aspergillus tubingensis* конидилері

Бұл зерттелген саңырауқұлақтардың ішінде фунгицидтерге жоғары тұрақтылық көрсеткен *Aspergillus flavus*, ал *Aspergillus tubingensis* саңырауқұлағында топаз фунгицидіне тежелу байқалды (2-кесте).

*Aspergillus* туысы саңырауқұлақтарының бета-тубулин генін және ITS-аймағын секвенирлеу Генбанкте тіркелді. Идентификация нәтижесі нуклеотидті бірізділігінің нәтижесінде *Aspergillus tubingensis* Mosseray және *Aspergillus flavus* Link. түріне жататынын көрсетті (3-кесте). *Aspergillus tubingensis* морфологиялық си-

паты бойынша Аспергиллус нигерге ұқсайды. Сондықтан да морфологиялық сипаты бойынша түрін анықтау қиынға соқты. *Aspergillus tubingensis* түрін дәл анықтау үшін, секвенирлеу жасалынды. Бұл геннің нуклеотидті бірізділігі *Aspergillus tubingensis* Mosseray түріне жатқызылады.

*Aspergillus flavus* саңырауқұлағы қойма зеңіне жататын саңырауқұлақтардың бірі, ол қоймадағы астықтарға афлотоксин бөлуі арқылы зардаптайды. Токсиндермен зардапталған астықтар өсімдік, жануар, адамдар үшін зиянды.

## 3-кесте – Астық тұқымдастарынан алынған саңырауқұлақтарының гендерінің бірізділігі

Саңырауқұлақ түрі	Алынған нуклеотидті бірізділік және Генбанктегі есеп номері
<i>Aspergillus tubingen-sis</i> Mosseray.	Бета-тубулингенін секвенирлеу (KJ938412): CTGTGCTAACTGCATGTCTTCGTCGCTTCAATAGGTTACCTCCAAACCGGCCAGTGTG TAAGTGCCAATATGTTCTTCGAATGATTGCCCTCCCGGGTCTTGATTGGTGTTCGGTGGA CТAAACAACAATGATGGTGGTTAGGGTAAACCAAATGGTGCTGCTTCTTGTTACGTATTC ACTGCCACTGGATTGGGGATGGAACATCATCTCTCAAGCTATCTCAGCTTGAGTTCAGAT GTTATCCATCGGGGATATAGCTATCGGGTAAAGAACACGTCTAACAACCTCAACAGGCAGA CCATCTCTGGCGAGCACGGCCTTGACGGCTCCGGTGTGTAAGTACAACCTTTTTCACACC TCTCAATTGGTCAATGTGGAAGGATTGGGTTTCTGACGCGCAGGATAGTTACAAT GGCACCTCCGACCTCCAGCTGGAGCGCATGAACGTCTACTTCAACGAGGTTAGATCACA CCGTCCCTGAGTTTTTTCACGACAATATCATCAATGTCCTGACCACTTCAGCAGGCTAGC GGTAACAAGTATGTCCCCCGTCCCTCGTCGATCTCGAGCCCCGTACCATGGACGCC- TCCCGTGCCGGTCCCTTCGGCCAGCT
<i>Aspergillustubingen-sis</i> Mosseray.	ITS-аймақты секвенирлеу (KJ938413): ACCTCCCATCCGTGTCTATTATACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTTCGGCCGC- CGGGGGGGCGCCTTTGCCCGCCGGCCGCGGAGACCCCAACACGAACACT- GTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACCTTTCAACAATG- GATCTCTTGGTTCGGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATT- GCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCC- GGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGCTTGTGTGTTGGGTGCG- CGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGGCCGAAAGGCAGCGCGGCACCGCGTCCGATCCTC- GAGCGTATGGGGCTTTGTACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTTC- CAACCATTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATAT- CAATAAGCGGAGGA
<i>Aspergillusflavus</i> Link	Бета-тубулингенін секвенирлеу(№ KJ938407): TGGTAACCAAATCGGTGCTGCTTCTGGTATGTCTCAATGCCTTCGAGTTAGTATGCTTTGGAC- CAAGGAACCTCTCAAAGCATGATCTCGGATGTGTCTGTTATATCTGCCACATGTTTGCTAA- CAACTTTGCGAGGCAAACCATCTCTGGCGAGCACGGCCTTGACGGCTCCGGTGTGTAAGTA- CAGCCTGTATACACCTCGAACGAACGACGACCATATGGCATTAGAAGTTGGAATGGATCTGAC- GGCAAGGATAGTTACAATGGCTCCTCCGATCTCCAGCTGGAGCGTATGAACGTCTACTTCAAC- GAGGTGCGTACCTCAAATTTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCTC- CAGGCCAGCGGAAACAAGTATGTCCCTCGTCCGTCCTCGTTGATCTTGAGCCTGGTACCATG- GACGCCGTCCTGTCGGTCCCTTCGGTCAGCTCTTCCGTCCCGACAACCTCGTTTTTCGGC- CAGTCCGGTGTGTTAAACAACCTGGGCCAAGGGTCACTACACTGAGGGTGC

## Әдебиеттер

- 1 Abdrassulova Z.T., Kuzhantaeva Z.Z., Anuarova L.E. Biological specifics of some species of fungi on seeds of grain crops. Life Sci J 2014;11(6s):79-82 (ISSN:1097-8135).
- 2 García-Cela E, Crespo-Sempere A, Ramos AJ, Sanchis V, Marin S. Ecophysiological characterization of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillustubingen-sis* and *Aspergillus niger* isolated from grapes in Spanish vineyards. Int J Food Microbiol. 2014 Mar 3;173:89-98. doi: 10.1016.
- 3 Barberis MG, GajMerlera G, Reynoso MM, Chulze SN, Torres AM. Factors affecting distribution and abundance of *Aspergillus* section *Nigri* in vineyard soils from grapevine growing regions of Argentina. J Sci Food Agric. 2014 Mar 10. doi: 10.1002/jsfa.6647.
- 4 Doyle J.J., Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemistry Bulletin 19:11-15.
- 5 White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., New York.
- 6 Malferrari G., Monferini E., DeBlasio P., Diaferia G., Saltini G., Del Vecchio E., Rossi-Bernardi L., Biunno I. 2002. High-quality genomic DNA from human whole blood and mononuclear cells. BioTechniques. 33(6): 1228–1230.
- 7 Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74(12): 5463–5467.
- 8 Klich MA. *Aspergillusflavus*: the major producer of aflatoxin. Mol Plant Pathol. 2007 Nov;8(6):713-22. doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00436.x.
- 9 Chiba T, Takahashi Y, Sadamasu K, Nakama A, Kai A. Discrimination of *Aspergillusflavus* Group Fungi Using Phylogenetic Tree Analysis and Multiplex PCR. ShokuhinEiseigakuZasshi. 2014;55(3):135-41.