



УДК:579.8.06

Бехруз ТОЖИЕВ,

Базовый докторант института Микробиологии АН РУз

E-mail: tadzhiyev.bekhruz@mail.ru

Гулчехра РАСУЛОВА,

Мл. науч. исследователь института Микробиологии АН РУз

Дилором РУЗИЕВА,

Канд. биол. наук, ст. науч. сотр. института Микробиологии АН РУз

Тошхон ГУЛЯМОВА,

Профессор, д-р биол. наук, зав. лабораторией института Микробиологии АН РУз

Согласно обзору д.б.н К.Нормуродовой проф. Национального университета Узбекистана

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОКОЛОНИЙ ЭНДОФИТНЫХ ИЗОЛЯТОВ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ GINKGO BILOBA

Аннотация

Целью исследования являлось изучение морфологических характеристик макроколоний эндофитных грибов, выделенных из листьев и стеблей лекарственного растения *Ginkgo biloba* L. Образцы подвергались поверхностной стерилизации и инкубировались на картофельно-декстрозном агаре (PDA) при 28° С в течение 7 суток. В результате выделено 15 эндофитных изолятов, отнесённых к родам *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* и *Alternaria*. Морфологические признаки колоний - форма, окраска, текстура, пигментация и рост - подробно охарактеризованы. Полученные результаты показали значительное морфологическое разнообразие эндофитов и их адаптацию к внутренним тканям растения-хозяина. Исследование демонстрирует ценность морфологического анализа для первичной идентификации эндофитных грибов *Ginkgo biloba* и последующего использования выделенных штаммов в биотехнологических целях.

Ключевые слова: эндофитные грибы, *Ginkgo biloba*, морфология, макроколонии, PDA, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MACROCOLONIES OF ENDOPHYTIC ISOLATES ISOLATED FROM GINKGO BILOBA

Annotation

The aim of this study was to investigate the morphological characteristics of macrocolonies of endophytic fungi isolated from the leaves and stems of the medicinal plant *Ginkgo biloba* L.. Plant samples were surface-sterilized and incubated on Potato Dextrose Agar (PDA) at 28° C for seven days. A total of 15 endophytic isolates belonging to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, and *Alternaria* were obtained. The colonies were characterized in terms of form, color, texture, pigmentation, and growth rate. The results revealed notable morphological diversity among the isolates and their adaptation to the host plant's internal tissues. The findings emphasize the importance of morphological analysis as a primary tool for identifying *Ginkgo biloba* endophytic fungi and support further research into their potential biotechnological applications.

Keywords: endophytic fungi, *Ginkgo biloba*, morphology, macrocolonies, PDA, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*.

ENDOFITIK MAKROKOLONIYALARNING MORFOLOGIK XUSUSIYATLARI GINKGO BILOBADAN AJRATILGAN IZOLATLAR

Annosiya

Ushbu maqolada *Ginkgo biloba* L. dorivor o'simligining barglari va poyasidan *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* va *Alternaria* avlodlariga mansub 15ta endofit zamburug' izolyatlari ajratib olingan va ularning makrokoloniylarining morfologik xususiyatlari o'rganilgan. O'simlik namunalari sirt sterilizatsiyasi o'tkazilib, 28 °C da 7 kun davomida kartoshka-dekstroza agarli ozuqa muhitida (PDA) inkubatsiya qilingan. Koloniyalarning shakli, rangi, tuzilishi, pigmentatsiyasi va o'sish tezligi batafsil tavsiflangan. Tanlab olingan endofit zamburug'larning morfologik xilma-xilligi va o'simlik to'qimalariga moslashuvi ko'rsatilgan. Ushbu tadqiqot ishi *Ginkgo biloba* dan ajratilgan endofit zamburug'larini morfologik jihatdan aniqlashda muhim bosqich ekanini tasdiqlaydi hamda ularning biotexnologik qo'llanmalari uchun asos yaratadi.

Kalit so'zlar: endofit zamburug'lar, *Ginkgo biloba*, morfologiya, makrokoloniylar, PDA, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*.

Введение. Эндофитные микроорганизмы представляют собой важный компонент микрофлоры растений, заселяющий внутренние ткани без признаков патогенности и активно воздействуя на физиологию хозяина. Они способны повышать устойчивость растений к стрессовым факторам, усиливать процессы роста и синтез вторичных метаболитов, включая антибиотики, пигменты и антиоксиданты [1]. Во многих исследованиях ранее проведенных по устойчивости растений к стрессовым факторам отмечается, что эндофиты не только выполняют защитную функцию, но и могут выступать в роли продуцентов веществ, повышающих экологическую адаптивность растения в условиях засоления и температурных колебаний [2]. Эндофиты демонстрируют высокий потенциал в производстве вторичных метаболитов:

алкалоидов, пептидов, терпенов, бензопиранонов, изохроманов и других соединений с антибактериальной, противогрибковой, антиоксидантной и даже противоопухолевой активностью [3]. Более того, их рассматривают как перспективные биотехнологические ресурсы - например, как источники биоактивных веществ, биоконтроля, стимуляторов роста растений и средства снижения применения агрохимикатов [4].

Особый интерес представляет микрофлора реликтового растения *Ginkgo biloba* L., которое входит в фармакопею и растёт на территории Узбекистана. Его традиционно используют благодаря содержанию флавоноидов, гинкголидов и билобалидов [5]. С одной стороны, она рассматривается как потенциальный резервуар штаммов-продуцентов биологически активных веществ, а с другой - как модель для изучения коэволюции древнего растения с его симбионтами. Однако морфологические дескрипторы макроколоний эндофитов описаны фрагментарно, что осложняет их первичную идентификацию в лабораторной практике.

В контексте микробиома *G.biloba* интересно тем, что его эндофитные сообщества могут участвовать в метаболических процессах растения-хозяина. Так, в недавнем исследовании показано, что эндофиты корней *G. biloba* могут разделять и дополнять пути вторичного метаболизма растений, возможно, даже участвуя в горизонтальном переносе генетических элементов [6]. Кроме того, установлено, что концентрация флавоноидов в листьях *G. biloba* влияет на структуру эндофитной бактериальной популяции - с ростом содержания флавоноидов отмечено снижение α -разнообразия бактерий и усложнение микробной сети [7]. Таким образом, не только растение снабжает микроорганизмы нишей и субстратами, но и сами микроорганизмы активно влияют на биосинтез метаболитов хозяина.

Цель данной работы – изучение морфологической характеристики макроколоний эндофитных изолятов выделенных из *Ginkgo biloba*.

Материалы и методы. Для выделения эндофитных грибов из *Ginkgo biloba* отбирали визуально здоровые листья и молодые стебли без механических повреждений и признаков некроза. Образцы промывали под проточной водой в течение 3 минуты, после этого материал переносили в ламинарный бокс и подвергали поверхностной стерилизации по схеме «этанол – гипохлорит – этанол»: для листьев — 70 % этанол 30 с, 2 % NaOCl 1 мин, повторное ополаскивание 70 % этанолом 20 с; для стеблей — 70 % этанол 45 с, 3 % NaOCl 2 мин, 70 % этанол 30 с. После каждой обработки образцы трижды промывали стерильной дистиллированной водой и обсушивали на стерильной фильтровальной бумаге [8].

Стерильные кусочки с размером 5×5 мм помещали по 4–6 кусочков на чашки Петри с картофельно-декстрозным агаром (PDA). Инкубацию проводили при 26–28 °С в темноте в течение 7–21 суток. Рост колоний контролировали каждые 2–3 дня; из активного края мицелия выполняли пересевы для получения чистых культур. Полученные изоляты оценивали по основным морфологическим признакам - пигментации, скорости роста, структуре поверхности и форме края колонии - с последующей фотодокументацией.

После подтверждения чистоты культур отдельные изоляты переносили в жидкую питательную среду (картофельно-декстрозный бульон) для последующей глубинной ферментации и накопления биомассы. Полученные культуры использовали в дальнейших экспериментах по исследованию метаболической активности и продуцированию вторичных метаболитов [9].

Результаты и обсуждения. В результате проделанной работы были изолированы 15 эндофитных грибов (Рис. 1).



Рисунок 1. Изоляты эндофитных грибов *Ginkgo biloba*

На представленных изображениях показаны этапы выделения и культивирования эндофитных грибов, выделенных из растения *Ginkgo biloba*. Изоляты были получены из стеблей и листьев растения и перенесены на питательные среды для дальнейшего культивирования. На фотографиях изображены первичные культуры изолятов, успешно развившиеся на твёрдой среде и продемонстрировавшие различия в морфологии колоний, что свидетельствует о видовой и штаммовой неоднородности полученного материала.

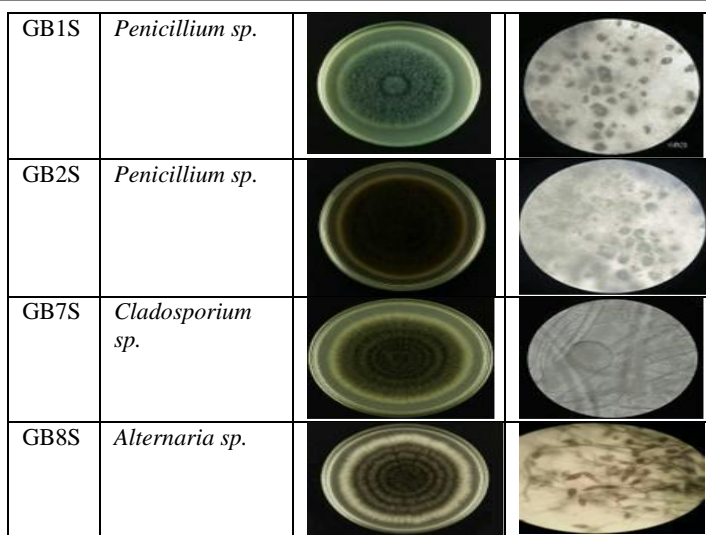
Полученные результаты подтверждают, что эндофитные грибы *G.biloba* обладают высоким метаболическим потенциалом. Накопленная биомасса может быть использована в дальнейшем для экстракции вторичных метаболитов с целью исследования их антимикробной и антибиоплёночной активности. Дополнительно следует отметить, что различия в морфологии и интенсивности роста изолятов указывают на возможное разнообразие синтезируемых ими биоактивных соединений, что делает данную группу штаммов перспективным объектом биотехнологического изучения.

Морфологическое изучение эндофитных грибов, выделенных из различных органов растения *Ginkgo biloba*, позволило выявить значительное разнообразие в форме, окраске и структуре колоний, а также в микроскопических признаках. Данные, представленные в таблице 1, показывают, что среди изолятов наблюдаются чётко выраженные морфологические различия, отражающие как видовую, так и штаммовую вариабельность.

Таблица 1.

Морфологические характеристики эндофитных грибов, выделенных из листьев и стеблей *Ginkgo biloba*

GB1L	<i>Aspergillus sp.</i>		
------	------------------------	---	---



Изоляты из листьев (GB1L-GB7L) демонстрировали умеренно быстрый рост и образовывали светло-зеленые или серовато-белые мягкие бархатистые колонии с гладкими краями. В отличие от них, изоляты из стеблей (GB8S-GB15S) были с более компактной текстурой мицелия, выраженной пигментацией и формированием концентрических зон, что, скорее всего, отражает различия физиологического состояния тканей и её химического состава у хозяина. Изоляты выделенные из листьев *G. biloba*, которые были дифференцированы с точки зрения морфологии, GB1L, GB2S, GB9S были типичны для рода *Penicillium*, содержащие кистевидные конидиофоры с разветвлёнными фиалидами и цепями круглых конидий.

Изоляты GB3L, GB6S GB10S имели схожие внешние морфологические структуры рода *Aspergillus* – гладкие конидиофоры с апикальными везикулами, на которых радиально расположены два ряда фиалид и сферических конидий. Изолят GB7S был серо-зелёной бархатистой поверхности и ветвистые конидиофоры с овальными конидиями - признаки, часто обнаруживаемые у рода *Cladosporium*. Изоляты GB3S и GB8S имели длинные септированные гифы и многоклеточные тёмные конидии с поперечными и продольными перегородками, соответствующие современной диагностике рода *Alternaria*. Особенно отличительным был изолят GB8S: тёмно-оливковый густой мицелий, выраженная пигментация многоклеточных конидий и обильное спорообразование, что в совокупности подтверждает идентификацию в роде *Alternaria* и соответствует свежим данным о его частоте обнаружения в эндофитах *G. biloba*.

Таким образом, проведенное исследование подтверждает, что существует большое морфологическое и, скорее всего, метаболическое разнообразие эндофитных грибов *Ginkgo biloba*, что делает его хорошими объектом для микробиологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции. *Ученые Записки Казанского Университета Серия Естественные Науки*, vol. 165, №2, P. 231–262, 2023.
2. Саубенова М.Г., Олейникова Е.А., Ермакбай Ж.Н., Абдиева Г.Ж., Елубаева М.Е. Роль эндофитных микроорганизмов в повышении устойчивости растений в условиях солевого стресса. *Микробиология и вирусология*, №1 (40), стр. 6–34, 2023.
3. Najjar A.A. Therapeutic Potential of Endophytic Microbes: Emphasizing Both Fungal and Bacterial Endophytes. *Appl. Microbiol.*, vol. 5, №1, page 5, 2025, doi: 10.3390/applmicrobiol5010005.
4. Anand U. and et al. Current Scenario and Future Prospects of Endophytic Microbes: Promising Candidates for Abiotic and Biotic Stress Management for Agricultural and Environmental Sustainability. *Microb. Ecol.*, vol. 86, №3, P. 1455–1486, 2023, doi: 10.1007/s00248-023-02190-1.
5. Kusari S., Hertweck C., Spiteller M. Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chem. Biol.*, vol. 19, №7, P. 792–798, 2012, doi: 10.1016/j.chembiol.2012.06.004.
6. Zou K. and et al. Root Endophytes and *Ginkgo biloba* Are Likely to Share and Compensate Secondary Metabolic Processes, and Potentially Exchange Genetic Information by LTR-RTs. *Front. Plant Sci.*, vol. 12, 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.704985.
7. Fu S., Deng Y., Zou K., Zhang S., Liu X., Liang Y. Flavonoids affect the endophytic bacterial community in *Ginkgo biloba* leaves with increasing altitude. *Front. Plant Sci.*, vol. 13, 2022, doi: 10.3389/fpls.2022.982771.
8. Ильясовна А. Л., Рузиева Д.М., Депсинов Р.И., Гулямова Т.Г. Влияние экстракта *aloe vera* на антибактериальные свойства ассоциированных эндофитных грибов. *Univers. Химия И Биология*, vol. 1, №1 (115), стр. 16–24, 2024.
9. Kuziyeva N., Abdulmyanova L., Gulyamova T. Screening for anticoagulant activity of ethanol extracts of endophytic fungus. *Universum Chemistry Biol.*, vol. 123, №9, 2024, doi: 10.32743/UniChem.2024.123.9.18172.