



ХҒТАР 34.27.15

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2025-152-3-87-102>

Ғылыми мақала

***Trichoderma harzianum* саңырауқұлағының *Cytospora* туысына жататын саңырауқұлақтарға қатысты антагонистік белсенділік және изоляттардың филогенетикалық талдауы**

**А.Ж. Жаксылыков², К.А. Дюсембаев^{1,2}, С.К. Наекова^{1,2}, Ж. Нурбекова¹,
Ш.Е. Арыстанова¹, А.К. Оспанова³, В.С. Киян^{1,2}, Ж.А. Тулегенова^{*1,2}**

¹Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

²Ұлттық биотехнология орталығы, Астана, Қазақстан

³Әлкей Марғұлан атындағы Павлодар педагогикалық университеті, Павлодар, Қазақстан

Аңдатпа. Бұл зерттеуде *Trichoderma harzianum* саңырауқұлағының жеміс және орман ағаштарының некрозы және құрғауын тудыратын *Cytospora* туысының фитопатогенді саңырауқұлақтарға қарсы антагонистік белсенділігі бағаланды. *T. harzianum* культураларының морфологиялық сипаттамасы бойынша мицелийдің ерекше құрылысы мен белсенді спораланатынын көрсетті, бұл олардың қоректік ортаны тез игеретінін байқатты. Бірге отырғызып өсіру барысында *C. chrysosperma*, *C. sorbina*, *C. parasitica*, *C. pruinopsis* патогендерінің өсуінің айқын тежелуі байқалды. Бұл құбылыс мицелий түсінің өзгеруімен, патоген колонияларының дамуының шектелуімен және ол патогендерді Петри табақшаларының негізгі аймақтарынан ығыстыруымен көрініс берді. Инкубацияның сегізінші тәулігінде *Cytospora* туысына жататын фитопатогенді саңырауқұлақтардың өсуі *Trichoderma harzianum* антагонисімен тежеліп, белсенді спора түзуімен қатар жүрді. ITS аймағын талдау негізіндегі молекулалық идентификация бөлініп алынған изоляттардың *T. harzianum* түріне жататынын растады (GenBank деректерімен 100 % ұқсастық). Құрылған филогенетикалық ағаш изоляттардың *T. harzianum* таксономиялық тобы құрамында жоғары бутстрэп-қолдауымен айқын кластерленуін көрсетті. Алынған нәтижелер *T. harzianum*-ды *Cytospora* туысына жататын фитопатогендерге қарсы өсімдіктердің биологиялық қорғанысының тиімді агенті ретінде қолдану болашағы зор екенін дәлелдейді. Сонымен қатар, антагонистік қасиеттерді зерттеуде морфологиялық әрі молекулалық-генетикалық талдауды қамтитын кешенді тәсілдің маңыздылығын айқындайды.

Түйін сөздер: *Trichoderma harzianum*, *Cytospora* spp., антагонистік белсенділік, морфология, филогенетикалық талдау, биобақылау

Кіріспе

Cytospora туысына жататын саңырауқұлақтар әлем бойынша 130-дан астам ағаш өсімдіктерінде қабық некрозын, діңгек ісігін және өркендердің құрғауын тудыратын қауіпті фитопатогендер болып табылады [1–3]. Бұл қоздырғыштар әсіресе *Rosaceae*

Түсті: 23.09.2025. Қабылданды: 30.09.2025. Онлайн қол жетімді: 30.09.2025.

*Хат-хабар авторы: zhan.ta.enu@gmail.com

тұқымдасына жататын жеміс дақылдарына, соның ішінде алма, алмұрт және сүйекті жемістерге айтарлықтай зиян келтіріп, бақ шаруашылығында үлкен экономикалық шығындарға әкеледі [1,2]. Жоғары экологиялық бейімділік, кең иесі ауқымы және морфологиялық белгілердің ұқсастығы *Cytospora* өкілдерін дәстүрлі жолмен анықтауды қиындатады, сондықтан түрлік құрамды нақтылау үшін морфологиялық сипаттамалармен бірге көплокустық филогенетикалық талдау жиі қолданылады [3–5].

Дәстүрлі химиялық фунгицидтерді қолдануға негізделген күрес әдістері бірқатар шектеулермен байланысты: патогендердің төзімділігінің дамуы, экологиялық тәуекелдер және адам денсаулығына қауіптіліктің болуы [6–8]. Осыған байланысты биологиялық бақылау өсімдіктерді қорғаудың экологиялық әрі тиімді баламасы ретінде қарастырылады [7–9].

Ерекше назар *Trichoderma* туысына жататын саңырауқұлақтарға аударылады, олар көптеген фитопатогендерге қарсы айқын антагонистік белсенділікке ие [11–13]. Бұл саңырауқұлақтар жылдам өсуімен, бәсекеге қабілеттілігімен, антибиотиктерді, ұшатын және ұшпайтын метаболиттерді, сондай-ақ жасуша қабырғаларын бұзатын ферменттерді (хитиназа, β -1,3-глюканаза) түзу қабілетімен сипатталады [9, 11], сонымен қатар *Trichoderma* spp. саңырауқұлақтары өсімдіктердің өсуін ынталандырып, олардың жүйелік төзімділігін арттыратын қабілеті бар [6, 8].

Ағаш түрлерінің қауіпті деген ауруларының бірі – *Cytospora* spp. туысының өкілдері тудыратын цитоспоралы ісік. Ең көп зерттелген қоздырғыштың бірі *Cytospora chrysosperma* болып табылады, ол теректерді (*Populus* spp.), талдарды (*Salix* spp.) және басқа да ағаш діңгектерін зақымдайды. Ауру дің мен бұтақтарда ұзынша ісікті жаралар түрінде көрініп, қабықтың құрғауы және саңырауқұлақтың жемісті денелерінің түзілуімен бірге жүреді. Инфекция әдетте әлсіреген немесе механикалық зақымданған ағаштарда дамиды, алайда фитопатоген еніп алғаннан кейін белсенді таралып, көшеттердің жаппай құрауына себеп болуы мүмкін. Соңғы онжылдықтарда цитоспоралы ісіктің өршуі Қытайда, Израильде және АҚШ-та бірнеше рет тіркеліп, плантациялар мен қорғаныш көшеттеріне айтарлықтай зиян келтірді [14].

Бұл аурудың таралуын бақылау дәстүрлі түрде агротехникалық тәсілдер мен фунгицидтерді қолдану арқылы жүзеге асырылады, дегенмен мұндай әдіс әрдайым тұрақты нәтиже бермей, қоршаған ортаға теріс әсерін тигізеді. Осыған байланысты биологиялық қорғау әдістеріне қызығушылық артып келеді, олардың ішінде *Trichoderma* spp. туысының саңырауқұлақтарын пайдалану ерекше орынға ие. Бірқатар зерттеулер *T. harzianum*, *T. viride* және *T. atroviride* штамдарының цитоспоралы және басқа да ағаш ісік қоздырғыштарына қарсы тиімділігі зертханалық жағдайларда да, далалық сынақтарда да дәлелденді [14].

Материалдар мен зерттеу әдістері

Үлгілерді алу және саңырауқұлақтарды оқшаулау

Ісікпен зақымданған алма ағаштарының (сорттары: Гала, Гренни Смит, Фуджи, Санрайз, Стар Кримсон, Голден Раш, Энтерпрайз, Ред Делишес, Голден Делишес, Пинк Леди, Ред Джонапринц) бұтақтары мен өркендері Алматы облысындағы алты түрлі коммерциялық бақтарынан: Алма Иссык, Мәншүк, Юнифрут, Арнау Агро, Асыл Агро, Бақдала жинақталды. Саңырауқұлақтарды бөліп алу үшін алдымен үлгілер 70 %-дық этанолмен

дезинфекцияланып, кейін некротизданған бөліктерден диаметрі 5 мм тін кесінділері алынды. Кесінділер картоп-глюкоза агары бар Петри табақшаларына орналастырылып, таза саңырауқұлақ культурасын бөліп алу үшін 27 °C температурада инкубацияланды. Колониялардың макроморфологиялық сипаттамалары өсуінің 5 және 8-і күнінде өлшеніп тіркелді.

Молекулалық идентификация

ДНҚ классикалық фенол-хлороформ әдісінің модификацияланған нұсқасы бойынша бөлінді [15,16]. Картоп-глюкозды агар (PDA) ортасында өсірілген саңырауқұлақ изоляттарының мицелийі культура бетінен алынып, 2 мл көлемдегі стерильді микроцентрифуга пробиркасына орналастырылды. ДНҚ-ның тазалығын арттыру үшін центрифугалаудан кейін 100 мкл сулы фаза алынып, 600 мкл фенол-хлороформ қоспасы қосылды.

Саңырауқұлақ изолятын идентификациялау үшін ішкі транскрипирленетін спейсер (ITS) аймағы ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') және ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') праймер жұптарын қолдану арқылы амплификацияланды. ПТР жалпы 25 мкл реакциялық көлемде жүргізілді. Құрамы: 1 мкл геномдық ДНҚ (~20 нг), 1 мкл тура және кері праймерлер (10 пМ), 12,5 мкл HS-Taq (ЖШС «БиоЛабмикс», Ресей) және 10,5 мкл нуклеазасыз су [17].

ПТР реакциясының бағдарламасына 95 °C-та 5 минуттық бастапқы денатурация, содан кейін 35 циклден тұратын денатурация (95 °C-та 15 секунд), праймерлердің байланысуы (57,5 °C-та 30 секунд), элонгация (72 °C-та 1 минут) және 72 °C-та 10 минуттық соңғы элонгация кірді. ПТР өнімдері 1,0% агарозды геле визуализацияланды.

Филогенетикалық талдау

ПТР өнімдерінің тазартылуы 2 мкл ExoSAP-IT (Applied Biosystems, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) реагентін 5 мкл ПТР өнімімен араластыру арқылы жүргізілді. Амплификацияланған ДНҚ фрагменттері Сэнгер әдісі бойынша BigDye Terminator v3.1 (NimaGen, Неймеген, Нидерланды) жиынтығын қолдану арқылы секвенирленді. Секвенирлеу өнімдері ABI 3130xl генетикалық анализаторында (Applied Biosystems, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) зерттелді. Осы зерттеу нәтижесінде алынған амплификацияланған генетикалық локустардың нуклеотидтік тізбектері GenBank деректер базасына депонирленді.

Алынған нуклеотидтік тізбектердің биоинформатикалық талдауы молекулалық эволюцияны статистикалық талдау және филогенетикалық ағаштарды құруға арналған MEGA 12 компьютерлік бағдарламасы көмегімен жүргізілді. Көптік туралаулар MUSCLE алгоритмі және MEGA бағдарламалық пакеті арқылы орындалды. Эволюциялық тарих пен тізбектер арасындағы дивергенция максималды ықтималдық әдісі және Тамура-Ней моделін пайдалану арқылы анықталды [23]. Филогенетикалық ағашты құру үшін BioNJ алгоритмі қолданылды. Кладалардың сенімділігі 1000 бутстрэп-репликация негізінде бағаланды.

Нәтижелер

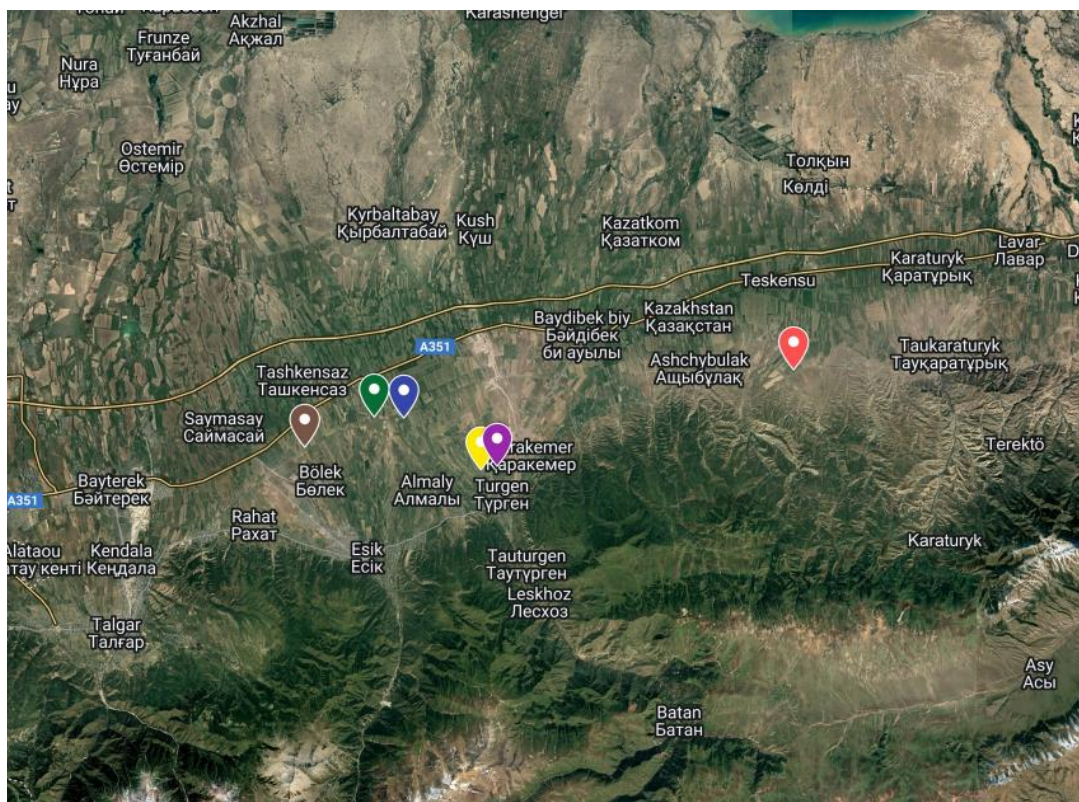
Үлгі жинақтау географиясы

Зерттеу барысында цитоспоралы ісіктің айқын белгілері бар инфицирленген алма (*Malus domestica*) бұтақтары мен өркендері Алматы облысының (Қазақстан) алты

коммерциялық бағынан жиналды. Үлгі алынған бақтарға Гала, Гренни Смит, Фуджи, Санрайз, Стар Кримсон, Голден Раш, Энтерпрайз, Ред Делишес, Голден Делишес, Пинк Леди және Ред Джонапринц сорттары кірді.

Үлгілер Алма-Иссык, Мәншүкк, Юнифрут, Арнау Агро, Асыл Агро және Бақдала шаруашылықтарынан жиналды. Олар Алматы облысының орталық және оңтүстік-шығыс бөлігінде орналасқан (Сурет 1). Карта зерттелген бақтардың аймақтағы интенсивті алма өсірудің негізгі аймақтарын – Талғар және Еңбекшіқазақ аудандарын, сондай-ақ Іле Алатауының бөктерін қамтитынын көрсетеді.

Жиналған материал қағаз қаптамаларда зертханаға жеткізіліп, 2024 жыл мен 2025 жылдың бірінші жартысында қоздырғыштарды оқшаулау және әрі қарай зерттеу үшін пайдаланылды.



Ескерту: Маркерлермен үлгі алынған шаруашылықтар белгіленген: көк – Алма-Иссык, сары – Мәншүк, жасыл – Юнифрут, қызыл – Арнау Агро, қоңыр – Асыл Агро, күлгін – Бақдала

Сурет 1. Алматы облысындағы зерттелген қарқынды алма бақтары

Саңырауқұлақтардың морфологиялық сипаттамасы, молекулалық идентификациясы және филогенетикалық талдауы

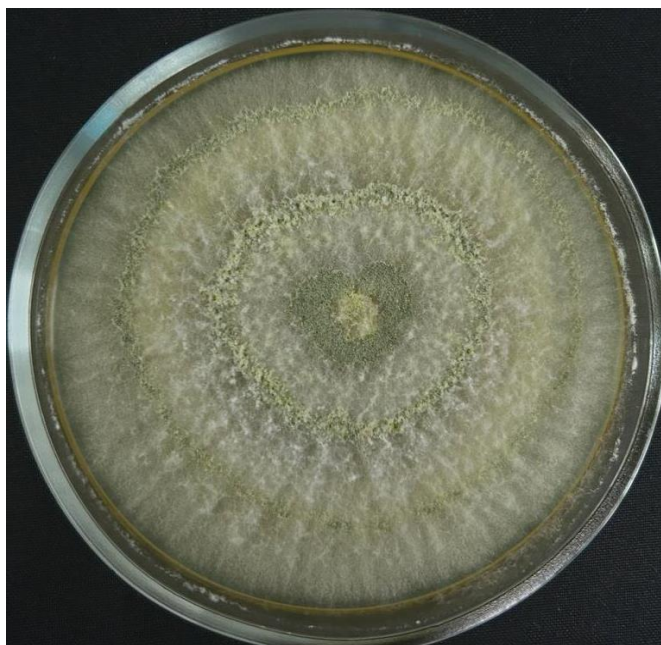
Бұған дейін цитоспоралы ісікпен зақымданған алма бұтақтарынан бөлінген *Cytospora* туысына жататын фитопатогенді саңырауқұлақтарға культуралды-морфологиялық және молекулалық зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде *C. chrysosperma*, *C. sorbina*, *C. parasitica* және *C. pruinopsis* түрлері анықталып, түрлерге морфологиялық және молекулалық-

биоинформатикалық талдау жасалды [19]. Осы зерттеуде дәл осы штаммдар *Trichoderma harzianum* антагонистік белсенділігін бағалау үшін пайдаланылды.

Зерттеу барысында *Cytospora* туысының өкілдеріне қатысты антагонистік белсенділік көрсеткен *Trichoderma harzianum* изоляттары аталған аймақтардағы сау ағаштардың бұтақтарындағы эндофиттік микрофлора ретінде бөлініп алынды. Алғашқы кезеңде *T. harzianum* колонияларының картоп-глюкоза агарында морфологиялық ерекшеліктері зерттелді (Сурет 2).

Инкубацияның бесінші тәулігінде *T. harzianum* колониясы картоп-глюкоза агары бар Петри табақшасының бетін толық жауып, жоғары өсу қарқындылығын көрсетті. Колония *T. harzianum* саңырауқұлағына тән радиалды-зоналық құрылымға ие болды. Орталық бөлігінде жасылдау-зәйтүн түсті айқын спора түзуімен бірге мицелийдің тығыздалуы байқалды. Спора түзілуінің концентрлі сақиналары ашық және қою түсті аймақтардың кезектесе өсетінін көрсетті.

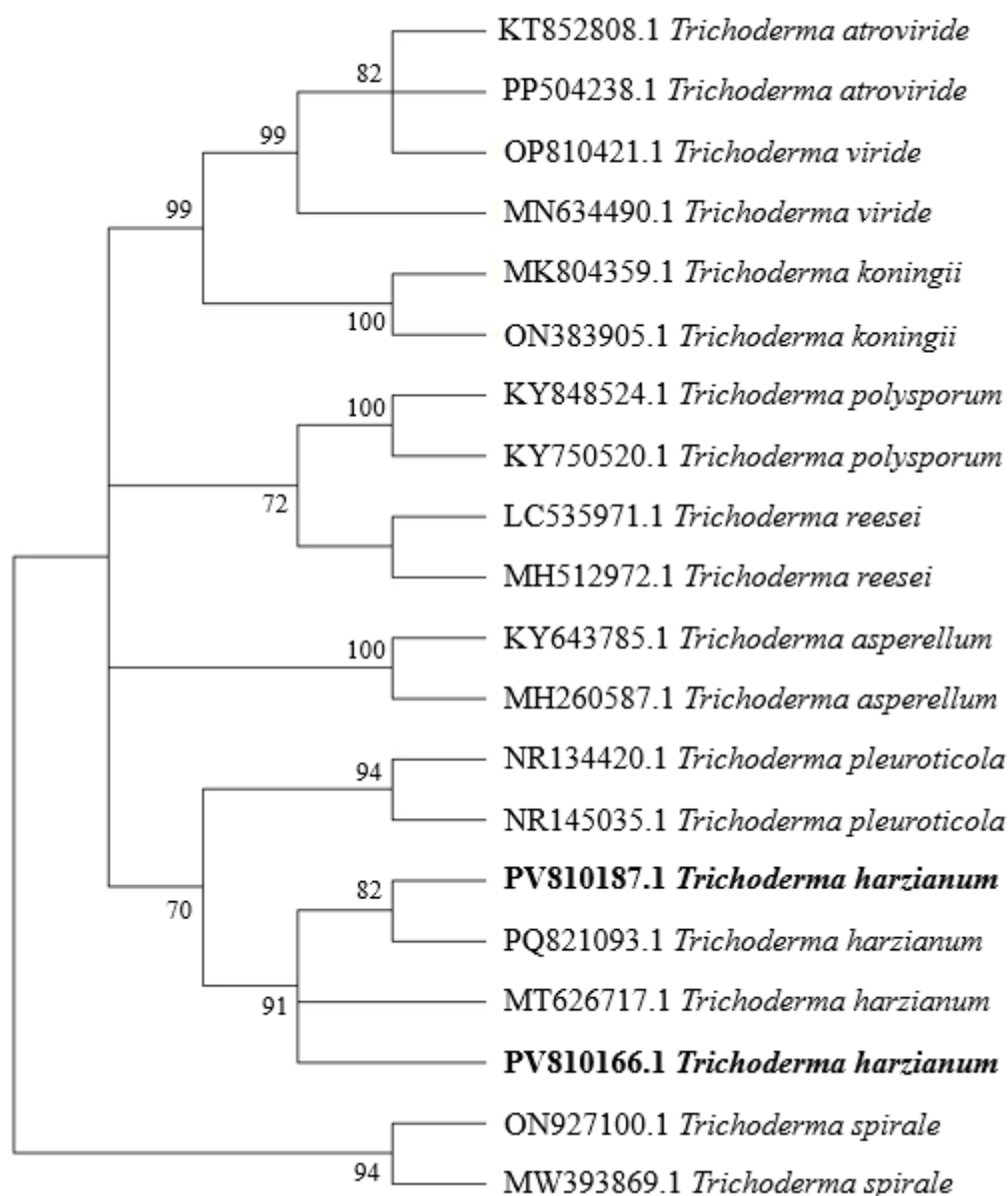
Колонияның шеті ақ түсті болып, қоректік орта бетімен белсенді таралатын мол, үлпілдек мицелиймен жабылды. Спора түзілген аймақта колония беті барқыт-ұнтақ тәрізді, ал шеттерінде – вегетативті мицелийдің белсенді өсуіне байланысты үлпілдек болды. Ауалық мицелий орташа биіктікті, бос, ортасына қарай біртіндеп тығызданды. Конидиялық құрылымдардың түзілуі негізінен орталық аймақта жүріп, түсі ақтан ашық жасылға, кейін зәйтүн -жасылға ауысты.



Сурет 2. Инкубацияның 5-тәулігінде картоп-глюкоза агарында өскен *Trichoderma harzianum* колониясының дамуы

Туыстық және түрлік идентификацияны молекулалық деңгейде растау үшін *Trichoderma* spp. туысының 2 изолятында ITS-аймақ амплификацияланды. ПТР-амплификациядан кейін алынған ұзындығы шамамен ~550 жұп негізді ампликон Сэнгер әдісімен секвенирленді. Изоляттардың секвенирлеу деректері BLASTn талдауынан кейін NCBI халық-

аралық дерекқоры, GenBank-тағы *Trichoderma harzianum* (PV810166.1, PV810187.1) тізбектерімен 100 % ұқсастық көрсетті.



Ескерту: Талдау үшін филогенетикалық ағаш BioNJ алгоритмімен және 1000 қайталау бутстрэп-тесті арқылы салынды. Осы зерттеуде алынған изоляттар қалың шрифтпен белгіленген

Сурет 3. ITS аймағы негізінде максималды ықтималдық әдісімен құрылған *Trichoderma* түрлерінің филограммасы

ITS генетикалық локусының тізбектеріне негізделіп, 1000 бутстрэп-репликацияны қолдана отырып, максималды ықтималдық әдісімен филогенетикалық ағаш құрылды (Сурет 3). Эвристикалық іздеу барысында бастапқы ағаштар максималды үнемділік

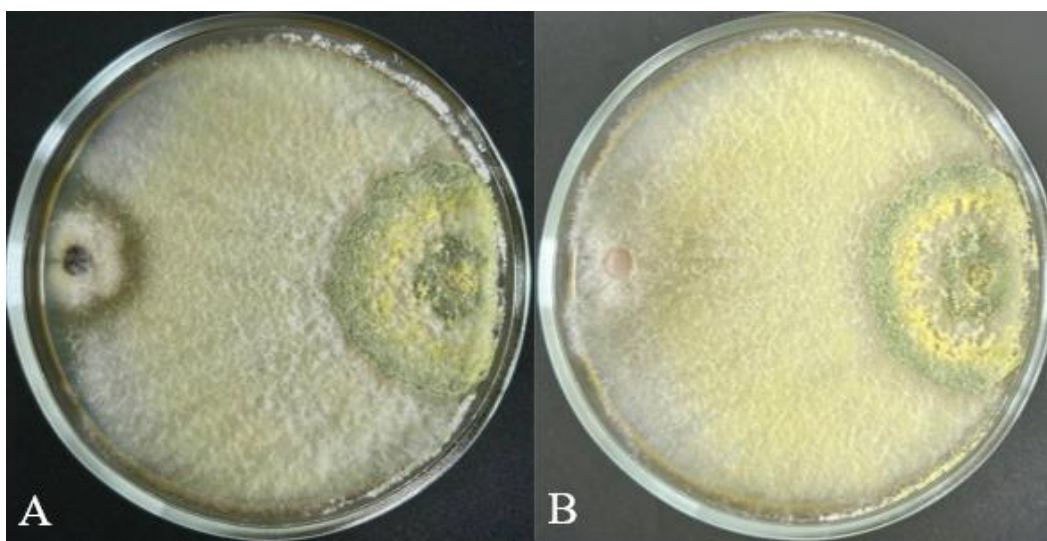
әдісі арқылы автоматты түрде алынды. Аналитикалық процедура соңғы деректер жиынтығындағы 1818 позициясы бар 20 нуклеотидтік тізбекті қамтыды. Эволюциялық талдау MEGA12 бағдарламасында 7-ге дейін параллельді есептеу ағындарын пайдалана отырып жүргізілді.

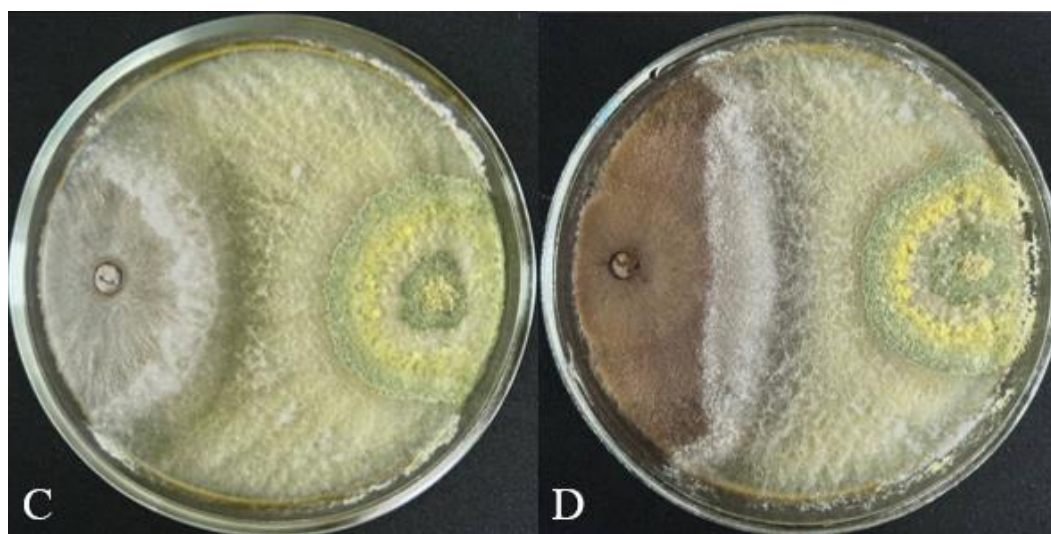
Құрылған филогенетикалық ағаш зерттелген *Trichoderma spp.* изоляттарының бірнеше кластерге бөлінгенін көрсетті, олардың әрқайсысы туыс ішіндегі таксономиялық топтарға сәйкес келеді. Айқындалып тұрған кластерге *T. atroviride* изоляттары (72-99%) кіреді, сондай-ақ *T. viride* кластері (99%) анықталды. *T. koningii* жеке, жақсы қолдау тапқан тармақты (100%) құрайды. *T. polysporum* (100%) және *T. reesei* (100%) тізбектері бөлек топталған. *T. asperellum* изоляттары жоғары қолдауға ие кластерге (100%) біріктірілген. Жеке орналасқан *T. pleuroticola* тізбектері 90% қолдаумен біртұтас тармақ түзеді. *T. harzianum* изоляттары 91% бутстрэп-қолдаумен ортақ кластерге топтасады. Дәйекті түрде *T. spirale* тобы бөлектенеді, ол екі изолятты біріктіреді (94%).

Cytospora түрлеріне қарсы *Trichoderma harzianum*-ның антагонистік белсенділігі

Trichoderma harzianum мен *Cytospora* туысының өкілдерін картоп-глюкоза агарында бірге өсірген кезде айқын антагонистік өзара әрекеттесу байқалды. Өсуінің бесінші тәулігінде *T. harzianum* мицелийі орта бетінде белсенді таралып, патоген колонияларымен тікелей байланысқа түсті. Байланыс аймағында *Cytospora* түрлерінің өсуінің тежелуі және мицелий түсінің өзгеруі тіркелді, бұл фитопатогеннің әлсіреуі мен ығыстырылуын көрсетеді (Сурет 4).

Cytospora chrysosperma түрі бар табақшада (Сурет 4А) *T. harzianum* културасы патогенді белсенді түрде тежеп, жанасу аймағында мол спора түзу қалыптастырды. *C. sorbina* түрімен жүргізілген тәжірибеде (Сурет 4В) патогеннің өсуі айтарлықтай шектелді, мицелий бақылау культураларымен салыстырғанда ашық түсті әрі сирек болды. *C. parasitica* түрімен бірге өсірілген нұсқада (Сурет 4С) патоген колониясының өсуі анық шектеліп, ал *T. harzianum* өзара әрекеттесу шекарасында тығыз споралану қалыптастырды. *C. pruinopsis*-пен бірге отырғызылған жағдайда (Сурет 4D) патогеннің өсуінің ең айқын әсері байқалды, ол мицелий түсінің қою қоңырға өзгеруімен қатар жүрді, бұл саңырауқұлақтың стресс реакциясын көрсетуі мүмкін.

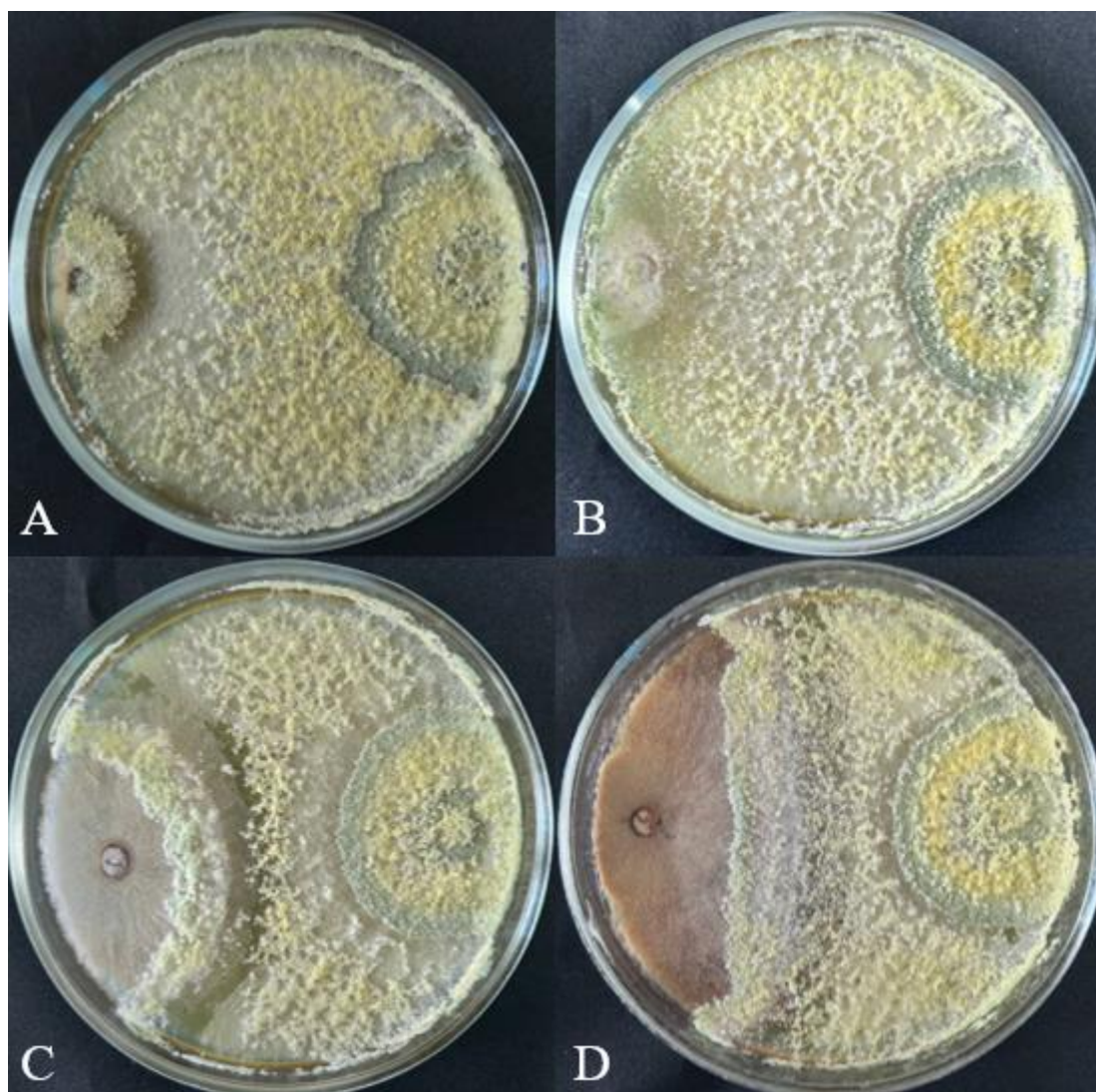




Сурет 4. Инкубацияның 5-тәулігінде *Trichoderma harzianum*-ның *Cytospora* тұқымдасының өкілдеріне қарсы антагонистік әсері **А** – *Cytospora chrysosperma*; **В** – *Cytospora sorbina*; **С** – *Cytospora parasitica*; **Д** – *Cytospora pruinopsis*

Инкубацияның сегізінші тәулігінде *Trichoderma harzianum*-ның *Cytospora* туысының өкілдеріне қарсы антагонистік белсенділігі одан әрі күшейе түсті. Барлық тәжірибе нұсқаларында *T. harzianum* антагонисінің қарқынды дамуы мен мол спора түзуі байқалып, патогендердің өсуі айтарлықтай тежеліп, олар Петри табақшаларының орталық аймақтарынан ығыстырылды (Сурет 5).

C. chrysosperma түрімен бірге отырғызылған нұсқада (Сурет 5А) патогеннің өсуі толықтай тежелді. Мицелий табақшаның шектеулі аймағын ғана алып, оны *T. harzianum*-ның белсенді таралған мицелийі толықтай жапты, бұл қарқынды спораланумен қатар жүрді. *C. sorbina* түрімен жасалған тәжірибеде (Сурет 5В) патогеннің өсуінің дерлік толық тежелуі байқалды. Оның мицелийі сирек әрі нашар дамыған күйде қалды, ал *T. harzianum* табақшаның негізгі бөлігін қамтып, жасылдау-сары түсті тығыз сақиналы споралану аймақтарын қалыптастырды. *C. parasitica* патогенімен отырғызылған жағдайда (Сурет 5С) патогеннің өсуі антагонистпен толық шектелді. Жанасу аймағында *T. harzianum*-ның белсенді споралануы айқын байқалып, ол радиалды таралып, ортаның айтарлықтай бөлігін жапты. *C. pruinopsis* патогенімен жасалған тәжірибеде (Сурет 5D) патоген мицелийінің дамуы шектеулі болып, өзгерген түсімен сипатталды, ал *T. harzianum* ортаны белсенді түрде колонизациялауды жалғастырып, біркелкі әрі мол споралану қалыптастырды.



Сурет 5. Инкубацияның 8-тәулігінде *Trichoderma harzianum*-ның *Cytospora* тұқымдасының өкілдеріне қарсы антагонистік әсері **A** – *Cytospora chrysosperma*; **B** – *Cytospora sorbina*; **C** – *Cytospora parasitica*; **D** – *Cytospora pruinopsis*

Кесте 1

***Trichoderma harzianum* және *Cytospora* spp. изоляттарының PDA ортасында бірлесіп өсіру жағдайындағы колония өсуінің динамикасы**

Патоген	5-і тәулік: колония радиусы, мм	8-і тәулік: колония радиусы, мм	Өзара әрекеттесу сипаты
<i>C. chrysosperma</i>	T.h: 40 ± 1,2 C.s: 20 ± 0,8	T.h: 56 ± 0,7 C.s: 4 ± 0,3	8-ші тәулікте патогенді толық ығыстырды
<i>C. sorbina</i>	T.h: 42 ± 0,7 C.s: 18 ± 1,1	T.h: 53 ± 0,5 C.s: 7 ± 0,4	8-ші тәулікте патогенді толық ығыстырды

<i>C. parasitica</i>	T.h: 38 ± 1,1 C.pa: 22 ± 0,9	T.h: 43 ± 1 C.pa: 17 ± 0,3	8-ші тәулікте патогенді жартылай ығыстырды
<i>C. pruinopsis</i>	T.h: 35 ± 1,3 C.pr: 25 ± 0,6	T.h: 39 ± 1,1 C.pr: 25 ± 0,4	8-ші тәулікте патогенді шамалы ығыстырды

Нәтижелер мен талқылау

Зерттеу нәтижелері *Trichoderma harzianum* эндофитінің *Cytospora* spp. патогенді саңырауқұлақтарына қарсы жоғары антагонистік белсенділігін көрсетті. Бұл деректер осы тұқымдастың өкілдері кең ауқымды фитопатогендерді ығыстыра алатынын сипаттайтын әдебиеттегі мәліметтермен сәйкес келеді. Бұған дейін *T. harzianum* мен *T. viride*-нің *Fusarium proliferatum* және *Fusarium verticillioides*-ке қарсы тиімділігі дәлелденіп, өсуінің 60–80% тежелуі және айқын микопаразиттік әсері анықталған [20]. Ұқсас нәтижелер *Alternaria alternata*, *Colletotrichum capsici*, *Rhizoctonia solani* және басқа фитопатогендерге қарсы зерттеулерде де анықталған, ол жерде қоздырғыштардың өсуі 70-85% дейін төмендеген [10,21,22].

Біздің деректеріміз *T. harzianum*-ның *Cytospora* spp. қарсы антагонизмінің негізгі механизмі микопаразитизммен, субстрат үшін бәсекелестікпен және екінші реттік метаболиттер түзілуімен байланысты екенін растайды. Бұрынғы зерттеулерде *Trichoderma* spp. белсенділігі негізінен хитиназа, целлюлаза, протеаза сияқты гидролитикалық ферменттерді, сондай-ақ 6-пентил- α -пирон мен пептаиболдарды қоса алғандағы антибиотиктерді бөлуімен анықтала-латыны көрсетілген [23–25]. *T. harzianum* жоғары хитиназдық белсенділікке ие, бұл пияздың күлгін дақты ауруының қоздырғышы *Alternaria porri* саңырауқұлағымен жүргізілген тәжірибелерде расталған: патогеннің өсуінің тежелу деңгейі 73%-ға жетіп, жылыжай жағдайындағы биобақылау тиімділігі химиялық фунгицидтермен салыстырылған [8].

Ерекше назар аударатын жайт – *Trichoderma* spp. туысының жекелеген штамдарының антагонистік қасиетіндегі негізгі айырмашылықтар: тіпті бір түрдің ішінде генетикалық әртүрлілік пен экологиялық бейімделуге байланысты елеулі түрішілік вариабельділік байқалады [26, 27]. Зерттеліп отырған *T. harzianum* изоляттарына жүргізілген филогенетикалық талдау зерттеуде қолданылған штамдардың таксономиялық тиістілігін нақтылап, *Cytospora* spp. өкілдеріне қарсы биобақылауда болашақта ең тиімді болуы мүмкін бағыттарды анықтауға мүмкіндік береді.

Қорытынды

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде *Trichoderma harzianum* изоляттары бөлініп, олардың *Cytospora* spp. өкілдеріне қарсы жоғары антагонистік белсенділігі сипатталды. Морфологиялық талдау колониялардың түрге тән құрылысын және қарқынды спора түзу процесінде қоректік ортаны тез игеруге мүмкіндігін көрсетті.

ITS-аймағын талдау негізіндегі молекулалық идентификация зерттелген изоляттардың *Trichoderma harzianum* түріне жататынын, халықаралық NCBI деректер базасы бойынша 100% ұқсастықпен растады. Құрылған филогенетикалық ағаш зерттелген

изоляциялардың эволюциялық байланыстарын анықтап, оларды жоғары бутстрэп-қолдау мәндерімен айқын кластерлеуді көрсетті, бұл *Trichoderma* spp. тұқымдасына қатысты қазіргі таксономиялық деректермен сәйкес келеді.

C. chrysosperma, *C. sorbina*, *C. parasitica* және *C. pruinopsis* фитопатогенді саңырауқұлақтарымен бірлесіп өсіру жағдайында патогендердің өсуінің айқын тежелуі, олардың мицелийінің морфологиялық өзгерістері және антагонисттің белсенді спора түзуімен бірлесе жүрді. Ең күшті әсер инкубацияның сегізінші тәулігінде байқалды: *T. harzianum* патогендердің дамуын толықтай тоқтатып немесе айтарлықтай шектеп, тұрақты бәсекелестік артықшылық көрсетті.

Алынған нәтижелер *T. harzianum*-ның *Cytospora* spp. фитопатогенді саңырау-құлақтарына қарсы жоғары биобақылау әлеуетін дәлелдейді. Морфологиялық, куль-туральдық және молекулалық-генетикалық талдауды қамтитын кешенді тәсіл бұл изоляттарды өсімдіктердің биологиялық қорғанысының тиімді агенттері ретінде қолданудың болашағын растады.

Авторлардың қосқан үлесі

Ж.А.Ж. – мәтіннің бастапқы нұсқасын жазу; **Ж.А.Ж., Д.К.А., Н.С.К.** – эксперименттерді жүргізу; **Н.Ж., А.Ш.Е., О.А.К.** – эксперимент нәтижелерін талдау; **К.В.С.** – зерттеудің тұжырымдамасы мен дизайнын әзірлеу; **Т.Ж.А.** – жұмысты басқару, мақаланың мәтінін редакциялау және соңғы толықтау.

Қаржыландыру

Бұл зерттеуді Қазақстан Республикасы Ғылым және Жоғары білім министрлігінің Ғылым комитеті қаржыландырды (грант №AP19680152).

Мүдделер қақтығысы

Авторлар мүдделер қақтығысының жоқтығын мәлімдейді.

Этикалық нормаларды сақтау

Авторлар орындаған бұл мақалада адамдарды немесе жануарларды объектілер ретінде пайдаланған зерттеулер жоқ.

Әдебиеттер тізімі

1. Pan M, Zhu H, Bonthond G, Tian C, Fan X. High diversity of *Cytospora* associated with canker and dieback of Rosaceae in China, with 10 new species described. *Front Plant Sci.* 2020;11:690. doi.org/10.3389/fpls.2020.00690
2. Pan M, Zhu H, Tian C, Huang M, Fan X. Assessment of *Cytospora* isolates from conifer cankers in China, with the descriptions of four new *Cytospora* species. *Front Plant Sci.* 2021;12:636460. doi.org/10.3389/fpls.2021.636460
3. Monkai J, Tibpromma S, Manowong A, Mapook A, Norphanphoun C, Hyde KD, Promputtha I. Discovery of three novel *Cytospora* species in Thailand and their antagonistic potential. *Front Microbiol.* 2022;13:882041. doi.org/10.3389/fmicb.2022.882041
4. Lin L, Pan M, Bezerra JDP, Tian C, Fan X. Re-evaluation of the fungal diversity and pathogenicity of *Cytospora* species from *Populus* in China. *Plant Dis.* 2023;107(1):83-96. doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0260-RE

5. Norphanphoun C, Raspé O, Jeewon R, Wen TC, Hyde KD. Morphological and phylogenetic characterisation of novel *Cytospora* species associated with mangroves. *MycoKeys*. 2018;(38):93-120. doi.org/10.3897/mycokeys.38.28011
6. Bhale UN, Rajkonda JN. Compatibility of fungicides and antagonistic activity of *Trichoderma* spp against plant pathogens. *Biosci Methods*. 2015;6(3):1-9. doi.org/10.5376/bm.2015.06.0003
7. Kushwaha M, Verma AK. Antagonistic activity of *Trichoderma* spp, (a bio-control agent) against isolated and identified plant pathogens. *Int J Chem Biomed Sci*. 2014;1:1-6.
8. Abo-Elyousr KAM, Abdel-Hafez SI, Abdel-Rahim IR. Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. *J Phytopathol*. 2014;162(9):567-574. doi.org/10.1111/jph.12228
9. Rajendiran R, Jegadeeshkumar D, Sureshkumar BT, Nisha T. In vitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. *J Agric Technol*. 2010;6(1):31-35.
10. Yassin MT, Mostafa AAF, Al-Askar AA. In vitro antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against fungal pathogens causing black point disease of wheat. *J Taibah Univ Sci*. 2022;16(1):57-65. doi.org/10.1080/16583655.2022.2029327
11. Kumar K, Amaresan N, Bhagat S, Madhuri K, Srivastava RC. Isolation and characterization of *Trichoderma* spp. for antagonistic activity against root rot and foliar pathogens. *Indian J Microbiol*. 2012;52(2):137-144. doi.org/10.1007/s12088-011-0205-3
12. Larran S, Santamarina Siurana MP, Roselló Caselles J, Simón MR, Perelló A. In vitro antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium sudanense* causing seedling blight and seed rot on wheat. *ACS Omega*. 2020;5(36):23276-23283. doi.org/10.1021/acsomega.0c03090
13. Castro GS, Sousa TF, da Silva GF, Pedroso RCN, Menezes KS, et al. Characterization of peptaibols produced by a marine strain of the fungus *Trichoderma endophyticum* via mass spectrometry, genome mining and phylogeny-based prediction. *Metabolites*. 2023;13(2):221. doi.org/10.3390/metabo13020221
14. Yi HW, Chi YJ. Biocontrol of *Cytospora* canker of poplar in north-east China with *Trichoderma longibrachiatum*. *For Pathol*. 2010;40(4):299-307. doi.org/10.1111/j.1439-0329.2010.00704.x
15. Smagulova A, Uakhit R, Kiyon V. First record of *Alternaria alternata* causing necrosis of *Thuja* (*Thuja occidentalis*) in Kazakhstan. *Plant Dis*. 2022;106(11):2951-2956. doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2523-PDN
16. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162(1):156-159. doi.org/10.1006/abio.1987.9999
17. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Cambridge, MA: Academic Press; 1990;18:315-322.
18. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol*. 2021;38(7):3022-3027. doi.org/10.1093/molbev/msab120
19. Tulegenova Z, Amanbayeva U, Shalabayeva AM, et al. Identification and pathogenicity of causal agents of apple canker disease in Kazakhstan. *Horticulturae*. 2025;11(1):45. doi.org/10.3390/horticulturae11010045
20. Yassin MT, Mostafa AAF, Al-Askar AA, Sayed SRM, Rady AM. Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* strains against some fusarial pathogens causing stalk rot disease of maize, in vitro. *J King Saud Univ Sci*. 2021;33(3):101363. doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101363

21. Rahman MA, Razvy MA, Alam MF. Antagonistic activities of *Trichoderma* strains against chili anthracnose pathogen. *Int J Microbiol Mycol*. 2013;1(1):7-22.
22. Abbas A, Jiang D, Fu Y. *Trichoderma* spp. as antagonist of *Rhizoctonia solani*. *J Plant Pathol Microbiol*. 2017;8:402. doi.org/10.4172/2157-7471.1000402.
23. Joshi BB, Bhatt RP, Bahukhandi D. Antagonistic and plant growth activity of *Trichoderma* isolates of Western Himalayas. *J Environ Biol*. 2010;31(6):921-928.
24. Li Y, Sun R, Yu J, Saravanakumar K, Chen J. Antagonistic and biocontrol potential of *Trichoderma asperellum* ZJSX5003 against the maize stalk rot pathogen *Fusarium graminearum*. *Indian J Microbiol*. 2016;56(3):318-327. doi.org/10.1007/s12088-016-0581-9
25. Singh V, Keswani C, Ray S, et al. Isolation and screening of high salinity tolerant *Trichoderma* spp. with plant growth property and antagonistic activity against various soilborne phytopathogens. *Arch Phytopathol Plant Protect*. 2019. doi.org/10.1080/03235408.2019.1648917
26. Jambhulkar PP, Singh B, Raja M, et al. Genetic diversity and antagonistic properties of *Trichoderma* strains from the crop rhizospheres in southern Rajasthan, India. *Sci Rep*. 2024;14(1):8610. doi.org/10.1038/s41598-024-58302-5
27. Anees M, Tronsmo A, Edel-Hermann V, Hjeljord LG, Héraud C, Steinberg C. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biol*. 2010;114(9):691-701. doi.org/10.1016/j.funbio.2010.05.007

Антагонистическая активность *Trichoderma harzianum* в отношении грибов рода *Cytospora* и филогенетический анализ изолятов

А.Ж. Жаксылыков², К.А. Дюсембаев^{1,2}, С.К. Наекова^{1,2}, Ж. Нурбекова¹, Ш.Е. Арыстанова¹, А.К. Оспанова³, В.С. Киян^{1,2}, Ж.А. Тулегенова^{*1,2}

¹Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

²Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан

³Павлодарский педагогический университет имени Алкея Маргулана, Павлодар, Казахстан

Аннотация. В данном исследовании была проведена оценка антагонистической активности *Trichoderma harzianum* по отношению к фитопатогенным грибам рода *Cytospora*, которые вызывают некроз и усыхание плодовых и лесных древесных культур. Морфологическая характеристика культур *T. harzianum* показала характерное строение и интенсивное спороношение мицелия, обеспечивавшее быстрое освоение питательной среды. При совместном культивировании выявлено выраженное угнетение роста патогенов *C. chrysosperma*, *C. sorbina*, *C. parasitica*, *C. pruinopsis*, которое проявлялось изменением окраски мицелия, ограничением развития колоний патогенов и их вытеснением из центральных зон чашек Петри. На восьмые сутки инкубации рост фитопатогенных грибов рода *Cytospora* подавлялся антагонистом *Trichoderma harzianum*, сопровождаясь активным спороношением. Молекулярная идентификация на основе анализа ITS-региона подтвердила принадлежность выделенных изолятов к виду *T. harzianum* (100% сходство с данными GenBank). Построенное филогенетическое дерево показало чёткую кластеризацию изолятов в составе таксономической группы *T. harzianum* с высокой бутстрэп-поддержкой. Полученные результаты подтверждают, что использование *T. harzianum* в качестве эффективного агента биологической защиты растений против грибов рода *Cytospora*

перспективно и подчёркивают важность комплексного подхода, включающего морфологический и молекулярно-генетический анализ при исследовании антагонистических свойств.

Ключевые слова: *Trichoderma harzianum*, *Cytospora* spp., антагонистическая активность, морфология, филогенетический анализ, биоконтроль

Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *Cytospora* fungi and phylogenetic analysis of isolates

A.Zh. Zhaxylykov², K.A. Dyussebayev^{1,2}, S.K. Nayekova^{1,2}, Zh. Nurbekova¹, Sh.E. Arystanova¹, A.K. Ospanova³, V.S. Kiyan^{1,2}, Z.A. Tulegenova^{*1,2}

¹L.N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan

²National center for biotechnology, Astana, Kazakhstan

³Pavlodar Pedagogical University named after Alkey Margulan, Pavlodar, Kazakhstan

Abstract. This study evaluated the antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi of the genus *Cytospora*, which cause necrosis and dieback in fruit and forest tree species. Morphological characterization of *T. harzianum* cultures revealed typical structures and intensive sporulation of the mycelium, ensuring rapid colonization of the nutrient medium. During dual culture, pronounced inhibition of the pathogens *C. chrysosperma*, *C. sorbina*, *C. parasitica*, and *C. pruinopsis* was observed, manifested by changes in mycelial pigmentation, restricted colony development, and displacement of the pathogens from the central zones of Petri dishes. By the eighth day of incubation, the growth of *Cytospora* phytopathogens was suppressed by the antagonist *T. harzianum*, accompanied by active sporulation. Molecular identification based on ITS-region analysis confirmed that the isolates belonged to *T. harzianum* (100% identity with GenBank data). The constructed phylogenetic tree showed clear clustering of the isolates within the *T. harzianum* taxonomic group with high bootstrap support. The results confirm that *T. harzianum* is a promising biological control agent against *Cytospora* fungi and highlight the importance of an integrated approach combining morphological and molecular-genetic analyses in studies of antagonistic properties.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, *Cytospora* spp., antagonistic activity, morphology, phylogenetic analysis, biocontrol

Авторлар туралы мәліметтер:

Жаксылыков Алихан Жомартович – жаратылыстану ғылымдарының бакалавры, Ұлттық биотехнология орталығының биоалуантүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының кіші ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Дюсембаев Казбек Амзеұлы – PhD, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және микробиология кафедрасының доцент м.а., Қажымұқан көшесі 13, 010008, Астана, Қазақстан; Ұлттық биотехнология орталығының биоалуантүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Наекова Салтанат Кубеевна – биология магистрі, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және микробиология кафедрасының аға оқытушысы, Қажымұқан

көшесі 13, 010008, Астана, Қазақстан; Ұлттық биотехнология орталығының биоалуантүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Нұрбекова Жадырасын Ақбергенқызы – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және микробиология кафедрасының қауымд. профессор м.а., Қажымұқан көшесі 13, 010008, Астана, Қазақстан.

Арыстанова Шолпан Есқуатовна – Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және микробиология кафедрасының ғылым докторы, Қажымұқан көшесі 13, 010008, Астана, Қазақстан.

Оспанова Айнагуль Кенжешовна – биология ғылымдарының кандидаты, Әлкей Марғұлан атындағы Павлодар педагогикалық университетінің профессоры, Сәтбаев көшесі 123, 140000, Павлодар, Қазақстан.

Киян Владимир Сергеевич – PhD, қауымд. профессор, Ұлттық биотехнология орталығының биоалуантүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының жетекшісі, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Түлегенова Жанар Асанбаевна – хат-хабар авторы, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, биотехнология және микробиология кафедрасының доцент м.а., Қажымұқан көшесі 13, 010008, Астана, Қазақстан; Ұлттық биотехнология орталығының биоалуантүрлілік және генетикалық ресурстар зертханасының аға ғылыми қызметкері, Қорғалжын тас жолы, 13/5, 010000, Астана, Қазақстан.

Сведения об авторах:

Жаксылыков Алихан Жомартович – бакалавр естественных наук, младший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан.

Дюсембаев Казбек Амзеулы – PhD, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, 010008, Астана, Казахстан; научный сотрудник лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан.

Наекова Салтанат Кубеевна – магистр биологии, старший преподаватель кафедры биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, 010008, Астана, Казахстан; научный сотрудник лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан.

Нурбекова Жадырасын Ақбергенқызы – и.о. ассоциированного профессора кафедры биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, 010008, Астана, Казахстан.

Арыстанова Шолпан Есқуатовна – доктор наук, кафедра биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, 010008, Астана, Казахстан.

Оспанова Айнагуль Кенжешовна – кандидат биологических наук, профессор Павлодарского педагогического университета им. Алкея Маргулана, ул. Сатпаева, 123, 140000, Павлодар, Казахстан.

Киян Владимир Сергеевич – PhD, ассоциированный профессор, заведующий лабораторией биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан.

Тулегенова Жанар Асанбаевна – автор-корреспондент, и.о. доцента кафедры биотехнологии и микробиологии Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева, ул. Кажымукана, 13, 010008, Астана, Казахстан; старший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия и генетических ресурсов Национального центра биотехнологии, шоссе Коргалжын, 13/5, 010000, Астана, Казахстан.

Information about the authors:

Zhaxylykov Alikhan Zhomartovich – Bachelor of Natural Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center for Biotechnology, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Duyssembayev Kazbek Amzeuly – PhD, Associate Professor, Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan Street 13, 010008, Astana, Kazakhstan; Researcher, Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center for Biotechnology, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Nayekova Saltanat Kubeevna – Master of Biology, Senior Lecturer, Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan Street 13, 010008, Astana, Kazakhstan; Researcher, Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center for Biotechnology, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Nurbekova Zhadyrasyn Akbergenkyzy – Associate Professor, Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan Street 13, 010008, Astana, Kazakhstan.

Arystanova Sholpan Eskuatovna – Doctor of Science, Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan Street 13, 010008, Astana, Kazakhstan.

Ospanova Ainagul Kenzheshovna – Candidate of Biological Sciences, Professor, Alkey Margulan Pavlodar Pedagogical University, Satpaev Street 123, 140000, Pavlodar, Kazakhstan.

Kiyan Vladimir Sergeevich – PhD, Associate Professor, Head of the Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Biotechnology Center, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.

Tulegenova Zhanar Asanbayevna – Corresponding Author, Associate Professor, Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazhymukan Street 13, 010008, Astana, Kazakhstan; Senior Researcher, Laboratory of Biodiversity and Genetic Resources, National Center for Biotechnology, Korgalzhyn Highway 13/5, 010000, Astana, Kazakhstan.