

## КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ РЕСУРСНЫХ ВИДОВ

### ПОЛИСАХАРИДЫ РАСТЕНИЙ *CROTALARIA ALATA* И *GLEDITSIA TRIACANTHOS* В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

© 2023 г. Р. П. Закирова<sup>1</sup>, \*, Ф. Кодиралиева<sup>1</sup>, А. М. Хван<sup>1</sup>, Р. К. Рахманбердыева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химии растительных вещества им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

\*e-mail: ranozakirova@mail.ru

Поступила в редакцию 27.11.2022 г.

После доработки 20.05.2023 г.

Принята к публикации 14.06.2023 г.

Изучена возможность использования галактоманнанов семян *Crotalaria alata* L. и *Gleditsia triacanthos* L. (Fabaceae) в качестве закрепителя питательной среды для культивирования микроскопических грибов *Stachybotrys alternans* Bonord. (*Stachybotrys* Corda) и *Fusarium oxysporum* Schr f. *vasinfectum* Bilai. (*Fusarium*). Оптимальный результат был достигнут при комбинировании агар-агара с галактоманнанами *Crotalaria alata* и *Gleditsia triacanthos* в соотношении 1.5 : 4 : 1. Такой состав позволил получить твердую питательную среду, по консистенции и цвету соответствующую 2%-ной агаризованной среде. Для биологической оценки разработанной питательной среды споры микроскопических грибов *Stachybotrys alternans* и *Fusarium oxysporum* наносили на поверхность контрольной и опытной сред и инкубировали в термостате при температуре 25–26 °С. Было показано, что рост колоний *Stachybotrys alternans* и *Fusarium oxysporum* на среде с использованием галактоманнанов опережал рост в контрольном варианте на пятые сутки на 37.2 и 31.5%, на седьмые – на 8.7 и 11.1% соответственно.

**Ключевые слова:** питательная среда, агар-агар, галактоманнан *Crotalaria alata*, галактоманнан *Gleditsia triacanthos*, *Stachybotrys alternans*, *Fusarium oxysporum*, диаметр колоний

DOI: 10.31857/S003399462303007X, EDN: SBYVAM

Общепринято использование агар-агара в качестве уплотняющей основы бактериологических питательных сред и для культивирования растительных клеток в условиях *in vitro*. Он служит инертным носителем и обеспечивает осмотический потенциал среды. В настоящее время агар-агар и агароподобные вещества получают, как правило, из красных морских водорослей [1].

В литературе описаны способы использования в качестве закрепляющей основы среды различных полисахаридов, например, лишайника [2]. В качестве гелеобразующих веществ для культивирования растительных клеточных культур исследованы агароза [3], фитагель [4] и гелрит [5], а также крахмалы как естественного происхождения [6, 7], так и подвергшиеся химической модификации [8]. Состав уплотнителей среды определяется возможностью получения геля оптимальной плотности, не угнетающего рост культуры.

Известно, что галактоманнаны широко используют в пищевой, текстильной, фармацевтической промышленности и медицине благодаря уникальным свойствам водных растворов и от-

сутствию токсичности [9–11]. Полисахариды, растворяясь в воде, образуют вязкие коллоидные растворы. Это свойство позволяет использовать их в качестве загустителей, эмульгаторов, стабилизаторов дисперсных систем, а в бинарных смесях – как геле- и структурообразователи [12, 13]. Для некоторых галактоманнанов выявлена ростостимулирующая активность [14, 15]. В семенах растений эти вещества выполняют резервную, водоудерживающую, защитную и энергетическую функции [16, 17].

Несмотря на то, что особенности химического строения полисахаридов выяснены, их взаимосвязь с биологической активностью остается не раскрытой из-за недоступности определения тонких структурных особенностей биополимеров.

Галактоманнаны ГМ-1 и ГМ-2 состоят из двух моносахаридов: D-маннозы и D-галактозы в соотношении 1 : 3 и 1 : 4 соответственно. Главная цепь галактоманнанов состоит из остатков D-маннозы, соединенных β-1,4-D-гликозидной связью и боковыми ответвлениями α-1,6-галактозными остатками [22]. Известно, что гелевая структура образуется за счет трехмерного сшивания с помощью

химических связей между различными цепями макромолекул в растворе. При этом свойства геля определяются количеством сшивок и свойствами участков полимерной цепи между сшивками.

Образование геля из раствора полисахаридов ГМ-1 и ГМ-2, очевидно, может происходить в основном за счет межмакромолекулярных водородных и гидрофобных взаимодействий. Важную роль при этом должно играть конформационное состояние макромолекулы галактоманнана в растворе, которое зависит от характера линейной маннозной цепи и распределения боковых галактозных остатков, а также от соотношения галактозы и маннозы.

В структуре ГМ-1 боковые ветви галактозы расположены строго через 2 звена маннозной цепи. А в структуре ГМ-2 разветвление наблюдается через 1 или через 2 маннозных звена. То есть структура ГМ-1 является более однородной по сравнению с ГМ-2.

Известно, что агар-агар – это смесь полисахаридов, состоящая из агарозы, линейные молекулы которой построены из чередующихся остатков D- и L-галактозы, и агаропектина, в котором остатки галактозы частично этерифицированы серной кислотой. При этом надо заметить, что гелеобразование особенно характерно для агарозы; накопление в агаропектине отклонений от структуры агарозы (этерифицированных звеньев) приводит к ослаблению и даже к полному исчезновению его гелеобразующей способности. Следовательно, нерегулярная структура агаропектина, вероятно, препятствует гелеобразованию.

Цель работы – изучение возможности использования в качестве закрепителя питательной среды галактоманнана из семян *Crotalaria alata* L. и *Gleditsia triacanthos* L. (Fabaceae) для культивирования микроскопических грибов *Stachybotrys alternans* Bonord. и *Fusarium oxysporum* Bilai.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования были семена *Crotalaria alata* и *Gleditsia triacanthos*, собранные на территории Ташкентской обл. Республики Узбекистан.

Для получения галактоманнана из семян *Crotalaria alata* (ГМ-1) использовали методику Ф. Кодиралиевой и Р.К. Рахманбердыевой [18]. Из 100 г воздушно-сухого сырья семян *Crotalaria alata* выход галактоманнана составил 15%. Получение галактоманнана из семян *Gleditsia triacanthos* (ГМ-2) проводили по методике Р.К. Рахманбердыевой с соавторами [19]. Из 100 г кожуры семян *Gleditsia triacanthos* выход галактоманнана составил 18%.

В питательные среды по прописи Чапека в контрольном варианте вносили в качестве закрепителя 2%-ный агар-агар, в опытном – различ-

ные соотношения галактоманнана в сочетании с агар-агаром. Питательные среды автоклавировали при 1 атм. 20 мин, после остывания до 45–50 °С разливали в чашки Петри. Вязкость разбавленных растворов полисахаридов определяли с помощью вискозиметра типа Убеллодэ при температуре 25 °С.

Для определения скорости роста колоний микроорганизмов использовали метод точечного посева спор. Споровый материал грибов *Stachybotrys alternans* (*Stachybotrys* Corda) и *Fusarium oxysporum* Schr f. *vasinfectum* Bilai (*Fusarium*) наносили стерильной иглой на поверхность питательных сред и инкубировали в термостате при температуре 25–26 °С. Измерение диаметра колоний грибов проводили на пятые и седьмые сутки культивирования [20, 21].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены вязкостные характеристики разбавленных водных растворов исследуемых полисахаридов ГМ-1 и ГМ-2, а также их смесей с агар-агаром в различных соотношениях. Видно, что во всех случаях приведенная вязкость смесей резко возрастает по сравнению с вязкостью отдельных компонентов. То есть можно предположить, что при смешении ГМ-1 и ГМ-2 с агар-агаром происходит межмакромолекулярное взаимодействие между цепями различных полисахаридов. Однако степень такого взаимодействия различается в зависимости от природы полисахаридов ГМ-1 и ГМ-2, а также от их соотношения с агар-агаром. Следовательно, при увеличении концентрации смесей полисахаридов с агар-агаром можно ожидать, что при определенных соотношениях компонентов удастся достичь гелевого состояния.

Были испытаны питательные среды, где в качестве закрепителя среды были включены галактоманнаны в отдельности и в различных соотношениях. Как видно в табл. 2, различие в однородности структур исследуемых галактоманнана также отражается на их способности к гелеобразованию. Так, ГМ-1 в концентрации 10 и 20% образует твердый гель. Высокая неоднородность структуры ГМ-2 вероятно ослабляет возможную способность образования геля и ГМ-2 находится в вязкотекучем состоянии даже в концентрации 10 и 20%.

Учитывая различную способность ГМ-1 и ГМ-2 к гелеобразованию с целью выявления возможности замены агар-агара полисахаридами изучен двухкомпонентный состав, где в качестве закрепителя были испытаны композиции, состоящие из агар-агара и одного из исследуемых галактоманнана: *Crotalaria alata* (ГМ-1) или *Gleditsia triacanthos* (ГМ-2) (табл. 2).

При использовании в качестве закрепителя среды галактоманнана ГМ-2 в концентрациях 30 г/л

**Таблица 1.** Вязкость растворов в зависимости от состава среды полисахаридов  
**Table 1.** Dependence of solution viscosity on the composition of the polysaccharide medium

Состав Composition	Концентрация (г/л) Concentration (g/L)	Содержание, % Content, %	Соотношение компонентов, % Component ratio, %	Приведенная вязкость $\eta_{\text{прив}}$ (дл/г) Reduced viscosity $\eta_{\text{red}}$ (dL/g)
Агар-агар Agar-agar	0.006	100	—	6.1
	0.010			7.0
	0.020			9.25
ГМ-1 GM-1	0.010	100	—	26.0
	0.020			31.5
ГМ-2 GM-2	0.010	100	—	100
	0.020			188.8
Агар-агар Agar-agar	0.006	23.0	1 : 3.3	37.0
ГМ-1 GM-1	0.020	77.0		
Агар-агар Agar-agar	0.010	33.3	1 : 2	44.4
ГМ-1 GM-1	0.020	66.7		
Агар-агар Agar-agar	0.006	23.0	1 : 3.3	172.5
ГМ-2 GM-2	0.020	77.0		
Агар-агар Agar-agar	0.010	33.3	1 : 2	201.5
ГМ-2 GM-2	0.020	66.7		
Агар-агар Agar-agar	0.010	25.0	1 : 3	229.6
ГМ-2 GM-2	0.030	75.0		
Агар-агар Agar-agar	0.006	23.0	1 : 1.67 : 1.67	107.6
ГМ-1 GM1	0.010	38.5		
ГМ-2 GM-2	0.010	38.5		
Агар-агар Agar-agar	0.006	22.7	1 : 2.7 : 0.7	57.6
ГМ-1 GM-1	0.016	61.3		
ГМ-2 GM-2	0.004	15.9		

Примечание. Здесь и в табл. 2: ГМ-1 — галактоманнаны, выделенные из *Crotalaria alata*; ГМ-2 — галактоманнаны, выделенные из *Gleditsia triacanthos*.

Note. Here and in table 2: GM-1 — galactomannans isolated form *Crotalaria alata*; GM-2 — galactomannans isolated from *Gleditsia triacanthos*.

**Таблица 2.** Зависимость физического состояния среды от состава полисахаридов  
**Table 2.** Dependence of the physical state of the medium on the polysaccharide composition

Состав загустителей Composition of stabilizer			Физическое состояние питательной среды The physical state of the growth medium
Агар-агар, (г/л) Agar-agar, (g/L)	ГМ-1 (г/л) GM-1 (g/L)	ГМ-2 (г/л) GM-2 (g/L)	
20	—	—	Твердая однородная Solid homogeneous
10	20	—	Твердая однородная Solid homogeneous
6	20	—	Мягкая однородная Soft homogeneous
2	30	—	Твердая со сгустками Solid with clots
—	30	—	Твердая со сгустками Solid with clots
10	—	30	Мягкая Soft
10	—	20	Мягкая Soft
6	—	20	Вязкотекучая Viscous
6	10	10	Мягкая Soft
6	16	4	Твердая однородная Solid homogeneous

Примечание. Прочерк означает отсутствие этого компонента в составе загустителей.  
 Note. A dash means the absence of the component in stabilizer.

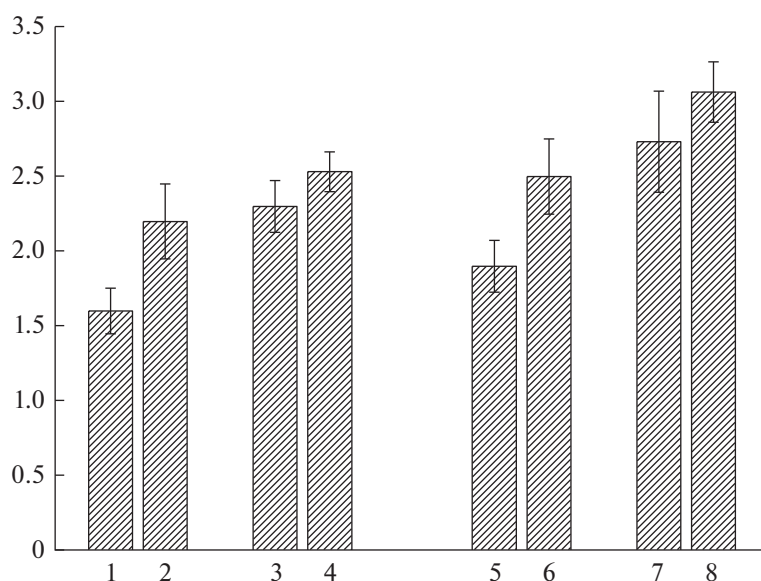
или 20 г/л с добавлением агар-агара 10 г/л среда была мягкой по консистенции, а при снижении содержания агар-агара до 6 г/л среда оставалась в вязкотекучем состоянии. Таким образом, все исследованные соотношения агар-агар : ГМ-2 не привели к образованию геля с необходимыми для биологии свойствами (твердость). Тем не менее, в смеси 25- и 33%-ного агар-агара с ГМ-2 в количестве 30 и 20 г/л образовывался мягкий гель.

При внесении 10 г/л агар-агара (50% от нормы) с добавлением 20 г/л ГМ-1 среда по твердости соответствовала контрольному варианту. При уменьшении содержания агар-агара до 6 г/л при той же концентрации галактоманнана наблюдалось снижение жесткости среды, не позволяющее проводить посев микроорганизмов на ее поверхности. При увеличении концентрации галактоманнана ГМ-1 до 30 г/л в сочетании с агар-агаром в количестве 2 г/л, а также при этой же концентрации ГМ-1 с полным исключением агар-агара, питательная среда представляла собой густой неоднородный клейстер, с трудом разливалась после автоклавирования и неравномерно распреде-

лялась по поверхности чашек Петри. Таким образом, в смеси агар-агар/ГМ-1 = 23/77% образуется мягкий гель, а в смеси, где агар заменен на 66.7% полисахаридом ГМ-1, удается получить твердый гель с необходимыми характеристиками.

Из полученных результатов следует, что макромолекулы ГМ-1 гораздо более способны к трехмерному взаимодействию с макромолекулами агар-агара с образованием твердого геля в отличие от ГМ-2, который может образовать только мягкий неустойчивый гель. Различие в гелеобразующей способности исследуемых галактоманнанов позволили предположить возможность частичной замены агар-агара сочетанием полисахаридов ГМ-1 и ГМ-2 с агар-агаром для получения питательной среды с необходимыми параметрами. Для исследования этой возможности была изучена трехкомпонентная система с различным их соотношением.

При соотношении ГМ-1 и ГМ-2 1 : 1 в концентрации 10 г/л с добавлением агар-агара в концентрации 6 г/л, среда имела мягкую консистенцию. Использование в качестве закрепителя смеси по-



**Рис. 1.** Диаметр (см) колоний грибов *Stachybotrys alternans* и *Fusarium oxysporum* на контрольной и питательной среде. *Stachybotrys alternans*: 1 – на пятые сутки на стандартной среде; 2 – на пятые сутки на опытной среде; 3 – на седьмые сутки на стандартной среде; 4 – на седьмые сутки на опытной среде. *Fusarium oxysporum*: 5 – на пятые сутки на стандартной среде; 6 – на пятые сутки на опытной среде; 7 – на седьмые сутки на стандартной среде; 8 – на седьмые сутки на опытной среде.

**Fig. 1.** Diameter (cm) of fungal colonies of *Stachybotrys alternans* and *Fusarium oxysporum* on the standard and experimental medium. *Stachybotrys alternans*: 1 – on the fifth day on the standard medium; 2 – on the fifth day on the experimental medium; 3 – on the seventh day on the standard medium; 4 – on the seventh day on the experimental medium. *Fusarium oxysporum*: 5 – on the fifth day on the standard medium; 6 – on the fifth day on the experimental medium; 7 – on the seventh day on the standard medium; 8 – on the seventh day on the experimental medium.

лисахаридов (16 г/л ГМ-1, 4 г/л ГМ-2) и 6 г/л агар-агара на один литр среды приводило к резким изменениям по качественным показателям студня. Готовая стерильная среда хорошо разливалась по чашкам и после застывания образовала эластичный гладкий студень, который по консистенции и по цвету соответствовал 2%-ной агаризованной среде.

Показано, что при замещении агар-агара полисахаридами ГМ-1 и ГМ-2 на 38.5% каждый, можно получить только мягкий гель. Однако, при замещении агара на 61.3% полисахаридом ГМ-1 и на 15.9% полисахаридом ГМ-2 получен твердый гель. Разработанная трехкомпонентная питательная среда хорошо держалась в чашках, имела гладкую поверхность, посев культуры и снятие ее бактериологической петлей и стеклянным шпателем не вызывали затруднений.

С целью установления биологических показателей разработанной трехкомпонентной среды были использованы в качестве тест объектов микроскопические грибы *Stachybotrys alternans* и *Fusarium oxysporum*.

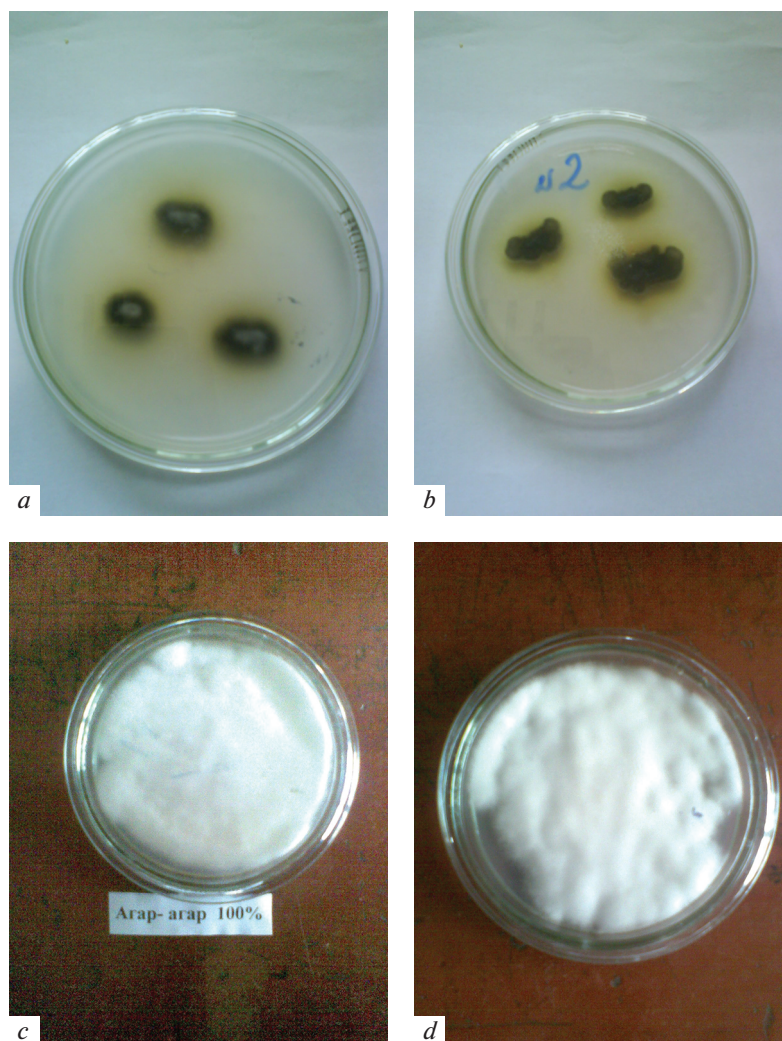
Изучение скорости роста микроскопических грибов показало, что на 5-е сутки размеры колоний *Stachybotrys alternans* на среде с использованием в качестве закрепителя среды галактоман-

нанов ГМ-1 и ГМ-2 достигали 2 см тогда как на обычной агаризованной – 1.6 см. На 7-е сутки эти показатели составляли 2.5 и 2.3 см, соответственно (рис. 1). Диаметр колоний гриба *Fusarium oxysporum* на пятые сутки на опытной среде достигал 2.5 см на седьмые – 3.0 см, тогда как на обычной агаризованной на пятые сутки – 1.9 см, на седьмые – 2.7 см.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенного исследования показана возможность замены агар-агара галактоманнанами семян *Crotalaria alata* L. и *Gleditsia triacanthos* L. (Fabaceae) в составе питательной среды для *Stachybotrys alternans* Bonord. (*Stachybotrys* Corda) и *Fusarium oxysporum* Schr f. *vasinfectum* Bilai (*Fusarium*) в соотношении: 6 г/л агар-агара, 16 г/л галактоманнана *Crotalaria alata* (ГМ-1) и 4 г/л *Gleditsia triacanthos* (ГМ-2). Таким образом, полисахариды ГМ-1 и ГМ-2 способны частично (на 61.3 и 15.9% соответственно) заменить агар-агар.

Установлено, что питательная среда, содержащая в качестве загустителей три вида исследованных полисахаридов, является более благоприятной для роста микроскопических грибов. Трехкомпонентная питательная среда обеспечивает более активный рост колоний *Stachybotrys alter-*



**Рис. 2.** Рост мицелия грибов: а) точечный посев *Stachybotrys alternans* на стандартной среде; б) точечный посев *Stachybotrys alternans* на опытной среде; в) сплошной посев *Fusarium oxysporum* на стандартной среде; г) сплошной посев *Fusarium oxysporum* на опытной среде.

**Fig. 2.** Growth of mycelium of fungi: i) spot inoculation of *Stachybotrys alternans* on a standard medium; b) spot inoculation of *Stachybotrys alternans* on an experimental medium; c) spread inoculation of *Fusarium oxysporum* on a standard medium; d) spread inoculation of *Fusarium oxysporum* on an experimental medium.

*nans* и *Fusarium oxysporum* по сравнению со стандартной средой на агар-агаре. Рост колоний на среде с использованием галактоманнанов опере-

жал контрольный вариант на пятые сутки на 37.2 и 31.5%, а на седьмые — на 8.7 и 11.1% соответственно.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кизеветтер И.В., Грюнер В.С., Евтушенко В.А. 1967. Переработка морских водорослей и других промысловых водных растений. М. 416 с.
2. Лазыкин А.Г., Черкасов Н.А., Ковтун А.Л., Рогожин А.З., Нестеров Ю.Е., Кузнецов В.Г. 1999. <https://patents.google.com/patent/RU2129159C1/ru>
3. Kohlenbach H.W., Wernicke W. 1978. Investigations on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in anther culture. — Ztsch. Pflanzenphysiol. 86(5): 463–472. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(78\)80292-X](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(78)80292-X)
4. González M., Hernández I., Jouve N. 1997. Analysis of anther culture response in hexaploid triticale. — Plant Breed. 116(3): 302–304. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1997.tb01003.x>

5. Halberg N., Olesen A., Tuvevsson K.D., Andersen S.B. 1990. Genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with high anther-culture response through hybridization. – Plant Breed. 105(2): 89–94. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00459.x>
6. Finnie S.J., Powell W., Dyer A.F. 1989. The effect of carbohydrate composition and concentration on anther culture response in barley (*Hordeum vulgare* L.). – Plant Breed. 103(2): 110–118. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1989.tb00358.x>
7. Sorvari S. 1986. The effect of starch gelatinized nutrient media in barley anther culture. – Ann. Agr. Fenn. 25: 127–133.
8. Белинская Е.В., Дульнев П.Г. 2007. Модифицированный крахмал как компонент питательной среды для получения гаплоидов ячменя в культуре пыльников *in vitro*. – Физиология и биохимия культурных растений. 39(2): 136–143.
9. Nagori B.P., Mathur N.K. 1996. Preparation of galactomannans beads for pharmaceutical applications. – Indian J. Chem. Technol. 3(5): 279–281. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/31042>
10. Edwards M., Reid J.S.G. 1995. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. – In: Food Polysaccharides and their application. New York. P. 155–185.
11. Rakhmanberdiyeva R.K., Rakhimov D.A., Vakhabov A.A., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. 2005. Galactomannans from *Gleditsia macracantha* seeds and its biological activity. – Chem. Nat. Compd. 41(1): 11–13. <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0062-6>
12. Анулов О.В., Смирнова Н.И., Местечкина Н.М., Щербухин В.Д. 1998. Галактоманнаны семян некоторых видов бобовых. – Физиология растений. 45(6): 922–924.
13. Щербухин В.Д., Анулов О.В. 1999. Галактоманнаны семян бобовых (обзор). – Прикладная биохимия и микробиология. 35(3): 257–274.
14. Закирова Р.П., Курбанова Э.Р., Ташпулатова Ф.Ш., Рахманбердиева Р.К., Асатова С.С. 2016. Использование растительного полисахарида в качестве стимулятора роста на хлопчатнике. – В сб.: Материалы международной научно-практической конференции “Современные тенденции развития аграрного комплекса”. С. Соленое Займище. С. 730.
15. Закирова Р.П., Асатова С.С., Ташпулатова Ф.Ш. 2018 г. Влияние галактоманнанов на развитие проростков *Cucumis melo*. – В сб.: Материалы Международной научно-практической конференции “Воспроизводство плодородия почв и их рациональное использование”. Ижевск. С. 204–206.
16. Buckeridge M.S., Reid J.S.G. 1996. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. – Ciencia e Cultura. 48(3): 153–162.
17. Рахманбердыева Р.К., Нигматуллаев А.М. 2003. Сезонная динамика содержания и состава углеводов в *Cardaria repens* (Schrenk) Jarm. – Раст. ресурсы. 39(1): 76–79. <https://elibrary.ru/item.asp?id=17080741>
18. Кодиралиева Ф., Рахманбердыева Р.К. 2011. Полисахариды *Crotalaria alata*. – Хим. природ. соедин. 1: 10–11.
19. Рахманбердыева Р.К., Талипова М., Газизов Ф., Рахимов Д.А. 2002. Углеводы и липиды семян *Gleditsia triacanthos*. – Хим. природ. соедин. 1: 19–21.
20. Билай В.И., Билай Т.И., Мусич Е.Г. 1982. Трансформация целлюлозы грибами. Киев. 296 с.
21. Красильников Н.А. 1966. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М. 216 с.
22. Кодиралиева Ф., Шапков А.С., Рахманбердыева Р.К. 2015. Строение галактоманнанов семян *Crotalaria alata*. – Хим. природ. соедин. 3: 355–358.

## Polysaccharides of *Crotalaria alata* and *Gleditsia triacanthos* as Components of a Growth Medium for Cultivation of Microfungi

R. P. Zakirova<sup>a</sup>,\*, F. Kodiraliyeva<sup>a</sup>, A. M. Hwan<sup>a</sup>, R. K. Rakhmanberdiyeva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Acad. Yunusov Institute of Chemistry of the Plant Substances, AS RUz, Tashkent, Republic of Uzbekistan

\*e-mail ranozakirova@mail.ru

**Abstract**—The study explores the possibility of using the seeds of *Crotalaria alata* L. and *Gleditsia triacanthos* L. (Fabaceae) as a growth medium stabilizer for cultivation of microfungi. A synergistic effect was achieved when agar-agar was combined with galactomannans from *Crotalaria alata* and *Gleditsia triacanthos*, in a ratio of 1.5 : 4 : 1. Such a composition made it possible to obtain a solid growth medium, similar in consistency and color to 2% agar-agar medium. To establish biological parameters of the developed medium, the spores of microfungi *Stachybotrys alternans* Bonord. (*Stachybotrys* Corda) и *Fusarium oxysporum* Schr f. *vasinfectum* Bilai (*Fusarium*), were plated on the surface of the growth media using inoculation needle and incubated in a thermostat at 25–26 °C. It was shown that partial substitution of agar-agar with galactomannans contributes to the active growth of the microorganisms. The growth of the *Stachybotrys alternans* and *Fusarium oxysporum* fungal colonies on the galactomannans growth medium surpassed the control on the fifth day by 37.2 and 31.5%, and on the seventh day – by 8.7 and 11.1% respectively.

**Keywords:** growth medium, agar-agar, galactomannan *Crotalaria alata*, galactomannan *Gleditsia triacanthos*, *Stachybotrys alternans*, *Fusarium oxysporum*, diameter of colonies

## REFERENCES

1. Kizevetter I.V., Gruner V.S., Evtushenko V.A. 1967. [Processing of algae and other commercial aquatic plants]. Moscow. 416 p. (In Russian)
2. Lazykin A.G., Cherkasov N.A., Kovtun A.L., Rogozhin A.Z., Nesterov Ju.E., Kuznetsov V.G. <https://patents.google.com/patent/RU2129159C1/ru>
3. Kohlenbach H.W., Wernicke W. 1978. Investigations on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in anther culture. — *Ztsch. Pflanzenphysiol.* 86(5): 463–472. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(78\)80292-X](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(78)80292-X)
4. González M., Hernández I., Jouve N. 1997. Analysis of anther culture response in hexaploid triticale. — *Plant Breed.* 116(3): 302–304. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1997.tb01003.x>
5. Halberg N., Olesen A., Tuvevsson K.D., Andersen S.B. 1990. Genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) with high anther-culture response through hybridization. — *Plant Breed.* 105(2): 89–94. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1990.tb00459.x>
6. Finnie S.J., Powell W., Dyer A.F. 1989. The effect of carbohydrate composition and concentration on anther culture response in barley (*Hordeum vulgare* L.). — *Plant Breed.* 103(2): 110–118. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1989.tb00358.x>
7. Sorvari S. 1986. The effect of starch gelatinized nutrient media in barley anther culture. — *Ann. Agr. Fenn.* 25: 127–133.
8. Belinskaya E.V., Dulnev P.G. 2007. Modified DKKmod starch as a nutrient medium component for obtaining barley haploids in anther culture. — *Physiology and biochemistry of cultivated plants.* 39(2): 136–143. (In Russian)
9. Nagori B.P., Mathur N.K. 1996. Preparation of galactomannans beads for pharmaceutical applications. — *Indian J. Chem. Technol.* 3(5): 279–281. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/31042>
10. Edwards M., Reid J.S.G. 1995. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. — In: *Food Polysaccharides and their application.* New York. P. 155–185.
11. Rakhmanberdyeva R.K., Rakhimov D.A., Vakhabov A.A., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. 2005. Galactomannans from *Gleditsia macracantha* seeds and its biological activity. — *Chem. Nat. Compd.* 41(1): 11–13. <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0062-6>
12. Anulov O.V., Smirnova N.I., Mestechkina N.M., Shcherbukhin V.D. 1998. Content and composition of nonstarch water-soluble polysaccharides in seeds of some Fabaceae. — *Russ. J. Plant Physiol.* 45(6): 802–804.
13. Shcherbukhin V.D., Anulov O.V. 1999. Legume seed galactomannans (review). — *Appl. Biochem. Microbiol.* 35(3): 257–274. (In Russian)
14. Zakirova R.P., Kurbanova E.R., Tashpulatova F.Sh., Rakhmanberdyeva R.K., Asatova S.S. 2016. [Using plant polysaccharide as a growth stimulant in cotton]. — In: [Modern trends in the development of the agrarian complex: Proceedings of the International scientific and practical conference]. Solenoye Zaimishche. P. 730. (In Russian)
15. Zakirova R.P., Asatova S.S., Tashpulatova F.Sh. 2018. [Influence of galactomannans on the development of seedlings of *Cucumis melo*.] — In: [Proceedings of the International scientific and practical conference “Reproduction of soil fertility and their rational use”. Izhevsk. P. 204–206. (In Russian)
16. Buckeridge M.S., Reid J.S.G. 1996. Major cell wall storage polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. — *Ciencia e Cultura.* 48(3): 153–162.
17. Rakhmanberdyeva R.K., Nigmatullaev A.M. 2003. Seasonal dynamics content and composition of carbohydrates in *Cardaria repens* (Schrenk) Jarm. — *Plant resources.* 39(1): 76–79. <https://elibrary.ru/item.asp?id=17080741> (In Russian)
18. Kodiralieva F., Rakhmanberdyeva R.K. Polysaccharides from *Crotalaria alata*. 2011. — *Chem. Nat. Compd.* 47(1): 7–9. <https://doi.org/10.1007/s10600-011-9818-3>
19. Rakhmanberdyeva R.K., Talipova M., Gazizov F., Rakhimov D.A. 2002. Carbohydrates and lipids of *Gleditsia triacanthos* seeds. — *Chem. Nat. Compd.* 38(1): 24–26. <https://doi.org/10.1023/A:1015717328738>
20. Bilay V.I., Bilay T.I., Musich E.G. 1982. [Transformation of cellulose by fungi]. Kyiv. 296 p. (In Russian)
21. Krasilnikov N.A. 1966. [Methods for studying soil microorganisms and their metabolites]. Moscow. 216 p. (In Russian)
22. Kodiralieva F.A., Shashkov A.S., Rakhmanberdyeva R.K. 2015. Structure of galactomannan from seeds of *Crotalaria alata*. — *Chem. Nat. Compd.* 51(3): 405–408. <https://doi.org/10.1007/s10600-015-1303-y>