

UO'K. 632.937:631.46:681.586

TUPROQDAN ENTOMOPATOGEN NEMATODALARNI AJRATIB OLISH UCHUN TURLI USULLARNI QIYOSIY TAQQOSLASH

Karimova Rixsiniso Miratxamovna 

O'simliklar karantini va himoyasi kichik ilmiy xodimi

Annotatsiya. Maqolada tuproqdan entomopatogen nematodalarni (*Steinernema* va *Heterorhabditis* avlodlari) ajratib olish uchun maxsus qurilmaning samaradorligi an'anaviy Berman voronkasi va suvli ekstraksiya usullari bilan qiyosiy jihatdan o'rganildi. Tajribalar mexanik tarkibi jihatidan uch xil tuproq namunalari, sun'iy ravishda 1500 ta invazion lichinka bilan zararlangan holda o'tkazildi. Qurilma 100 g tuproqqa o'rtaicha 1356 ± 42 ta nematodani ajratib oldi, bu Berman voronkasiga (948 ± 55) nisbatan 43,0 % ko'p va suvli ekstraksiyaga (712 ± 48) nisbatan deyarli 1,9 baravar ko'pdir. Ajratib olish vaqti 6 baravarga, suv sarfi esa 3,2 baravarga qisqardi; hayotchan nematodalar ulushi 96,8 % ni tashkil etdi. Natijalar qurilmaning yuqori samaradorligi va resurs tejamkorligini miqdoriy jihatdan tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: entomopatogen nematodalar, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, Berman voronkasi, suvli ekstraksiya, ekstraksiya samaradorligi, biologik himoya, maxsus qurilma.

Аннотация. В статье проведено сравнительное исследование эффективности специального устройства для выделения энтомопатогенных нематод из почвы (родов *Steinernema* и *Heterorhabditis*) по сравнению с традиционной воронкой Бермана и методом водной экстракции. Эксперименты были проведены на трёх типах почв, различающихся по механическому составу, искусственно заражённых 1500 инвазионными личинками. С помощью специального устройства из 100 г почвы было выделено в среднем 1356 ± 42 нематоды, что на 43,0 % больше по сравнению с воронкой Бермана (948 ± 55) и почти в 1,9 раза больше по сравнению с методом водной экстракции (712 ± 48). Время выделения сократилось в 6 раз, расход воды — в 3,2 раза; доля жизнеспособных нематод составила 96,8 %. Полученные результаты количественно подтверждают высокую эффективность устройства и его ресурсосберегающие преимущества.

Ключевые слова: энтомопатогенные нематоды, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, воронка Бермана, водная экстракция, эффективность экстракции, биологическая защита, специальное устройство.

Abstract. The paper presents a comparative evaluation of a special device for extracting entomopathogenic nematodes (genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*) from soil against the conventional Baermann funnel and water-extraction techniques. The device recovered on average 1356 ± 42 nematodes per 100 g of soil - 43.0 % more than the Baermann funnel (948 ± 55) and almost 1.9 times more than water extraction (712 ± 48). Extraction time was reduced 6-fold, water consumption 3.2-fold, while nematode viability reached 96.8 %.

Keywords: entomopathogenic nematodes, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, Baermann funnel, water extraction, extraction efficiency, biological control, special device.

Kirish. Entomopatogen nematodalar (EPN) Steinernematidae va Heterorhabditidae oilalariga mansub mayda chuvalchanglar bo'lib, hasharotlarning tabiiy kushandarlari hisoblanadi; ular *Xenorhabdus* va *Photorhabdus* simbiotik bakteriyalari yordamida xo'jayin organizmni 24-48 soat ichida halok qiladi. Ushbu xususiyatlari tufayli EPN zamonaviy integratsiyalashgan o'simliklarni himoya qilish tizimida tuproqda yashovchi zararkunandalarga qarshi ekologik xavfsiz biologik agent sifatida keng qo'llaniladi.

EPN bilan olib boriladigan ilmiy-tadqiqot va ishlab chiqarish ishlarining muvaffaqiyati ularni tuproqdan to'liq va sifatli ajratib olishga, shuningdek aniq hisobga olishga bevosita bog'liq. Hozirgi vaqtda eng keng tarqalgan usul 1917-yilda taklif etilgan klassik Berman voronkasi bo'lib, u nematodalarning og'irlik kuchi ta'sirida suvli muhitda pastga migratsiyasiga asoslanadi. Biroq bu usul ko'p vaqt (18–24 soat) talab qiladi, suv sarfi yuqori bo'ladi va og'ir mexanik tarkibli tuproqlarda uning samaradorligi keskin pasayadi. Oddiy suvli ekstraksiya usuli (yuvi-cho'ktirish) tezroq bo'lsa-da, nematodalarning bir qismi yo'qoladi, ularning faolligi esa mexanik shikastlanishlar tufayli pasayadi.

Mavjud usullarning ko'rsatilgan kamchiliklari ajratib olish uchun yangi, samarali va resurs tejamkor qurilmalarni yaratish zaruratini keltirib

chiqaradi. Muallif tomonidan ishlab chiqilgan va patent bilan himoyalangan qurilma boshqariladigan harorat, faol aeratsiya va suvning yopiq sirkulyatsiyasi tamoyillariga asoslangan.

Ajratib olish usullarining rivojlanish tarixi bir necha muhim bosqichni o'z ichiga oladi. G.Baermann [1] tomonidan taklif etilgan klassik voronka usuli birinchi bo'lib nematodalarning faol harakatchanligiga asoslangan gravitatsion migratsiya tamoyilini qo'lladi, biroq usul katta vaqt sarfi va nisbatan past samaradorlik bilan tavsiflanadi. G.F.White [2] hasharot lichinkalaridan (jumladan, *Galleria mellonella* dan) invazion lichinkalarni olish uchun madaniy usulni ishlab chiqdi, bu usul hozirgacha laboratoriya sharoitida EPN kulturasini ko'paytirish va saqlash uchun keng qo'llaniladi. R.A.Bedding va R.J.Akhurst [3] tuproqdagi rabditid nematodalarni aniqlash uchun soddalashtirilgan texnikani taklif qilib, usulni dala sharoitida qo'llash imkoniyatini kengaytirdi. H.K.Kaya va S.P.Stock [4] entomologik nematologiya bo'yicha uslubiy qo'llanmasida mavjud ajratib olish va identifikatsiya usullarini tizimlashtirib, ularning afzallik va kamchiliklarini qiyosiy tahlil qildi. L.A.Lacey va hammualliflar [5] EPN va boshqa hasharot patogenlarining biologik nazorat agenti sifatidagi istiqbollarni ko'rib chiqib, ajratib olish samaradorligining amaliy tatbiq uchun hal qiluvchi omil ekanligini ta'kidladilar. D.I.Shapiro-Ilan va hammualliflar [6] EPN ishlab chiqarish texnologiyalarini o'rganib, an'anaviy ajratib olish usullarining sanoat miqyosida qo'llanilishidagi cheklavlarini ko'rsatdilar. S.P.Stock va H.Goodrich-Blair [7] EPN va ularning simbiotik bakteriyalari o'rtasidagi o'zaro munosabatni tadqiq qilib, nematodalarning tuproqdagi faolligi va yashovchanligiga ta'sir etuvchi omillarni aniqladilar.

Keltirilgan tadqiqotlarning umumiy tahlili shuni ko'rsatadiki, an'anaviy usullar Berman voronkasi va suvli ekstraksiya sodda va arzon bo'lsa-da, ular sezilarli vaqt sarfi, yuqori suv iste'moli hamda og'ir mexanik tarkibli tuproqlarda samaradorlikning keskin pasayishi bilan tavsiflanadi. Adabiyotlarda qayd etilgan ushbu kamchiliklar boshqariladigan harorat va faol aeratsiya tamoyillariga asoslangan yangi, resurs tejankor qurilmalarni ishlab chiqish zaruratini yana bir bor asoslaydi.

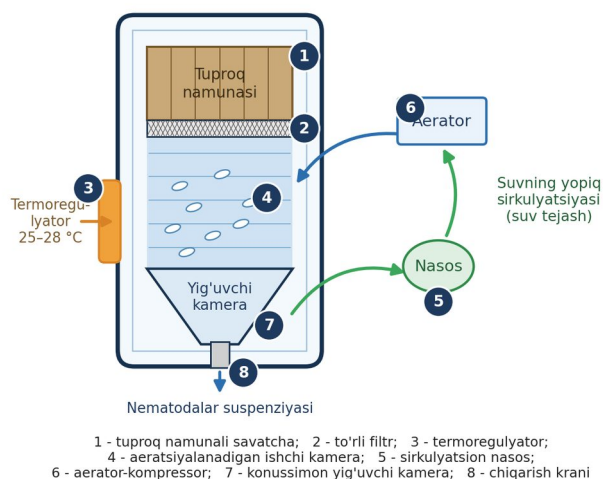
Tadqiqot maqsadi. Ishning maqsadi tuproqdan entomopatogen nematodalarni ajratib olish uchun maxsus qurilmaning samaradorligini Berman voronkasi va suvli ekstraksiya usullari bilan ajratib olingan nematodalar soni, sarflangan vaqt, suv sarfi va nematodalar faolligi ko'rsatkichlari bo'yicha qiyosiy baholashdan iborat.

Tadqiqot materiallari va usullari.

Nematodalar kulturas. Tajribalarda *Galleria mellonella* lichinkalarida laboratoriya sharoitida ko'paytirilgan *Steinernema feltiae* nematodasining invazion lichinkalari ishlatildi. Tajribadan oldin esa ularning faolligi mikroskop ostida tekshirildi.

Tuproq namunalari. Mexanik tarkibi bo'yicha farqlanadigan uch xil tuproq (yengil qumli, o'rtacha qumoq va og'ir gilli tuproq) namunalari quritildi, elandi va har 100 g namunaga sun'iy ravishda aniq 1500 ta invazion lichinka kiritildi. Har bir variant 5 takrorlikda (n=5) o'tkazildi.

Qiyoslanadigan usullar. (1) maxsus qurilma 25–28 °C haroratda, aeratsiya va yopiq sirkulyatsiya rejimida 4 soat davomida; (2) klassik Berman voronkasi xona haroratida 24 soat davomida; (3) suvli ekstraksiya namunani suvda loyqalantirib, 0,025 mm elakda cho'ktirish orqali. Qurilmaning prinsipial sxemasi 1-rasmda keltirilgan.



1-rasm. Tuproqdan entomopatogen nematodalarni ajratib olish uchun maxsus qurilmaning prinsipial sxemasi

Qurilmaning ishlash prinsipi quyidagicha: tuproq namunasi yuqori savatchaga (1) joylanadi va to'rtli filtr (2) orqali aeratsiyalanadigan ishchi kamera (4) bilan bog'lanadi. Termoregulyator (3) nematodalar uchun maqbul haroratni ushlab turadi, aerator (6) suvni kislorod bilan boyitib, lichinkalar faolligini oshiradi. Faollashgan nematodalar pastga migratsiya qiladi, konussimon yig'uvchi kamerada (7) to'planadi va kran (8) orqali yig'ib olinadi. Nasos (5) suvning yopiq sirkulyatsiyasini ta'minlab, uning sarfini sezilarli darajada kamaytiradi.

Hisobga olish va statistik tahlil. Ajratib olingan nematodalar Petri likobchasida stereomikroskop ostida ($\times 40$) sanaldi; faollik ko'rsatkichi harakatchan (tirik) lichinkalar ulushi bo'yicha aniqlandi. Ma'lumotlar bir faktorli dispersion tahlil (ANOVA) yordamida qayta ishlandi, o'rtacha qiymatlar orasidagi farqlar $p < 0,05$ darajasida eng kichik ahamiyatli farq (NSR, LSD) mezon bo'yicha baholandi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Uch qiyoslanadigan usulning asosiy ko'rsatkichlari bo'yicha umumlashtirilgan natijalar 1-jadvalda keltirilgan. Barcha ko'rsatkichlar bo'yicha maxsus qurilma ishonchli ustunlikka ega ekanligi ko'rinib turibdi.

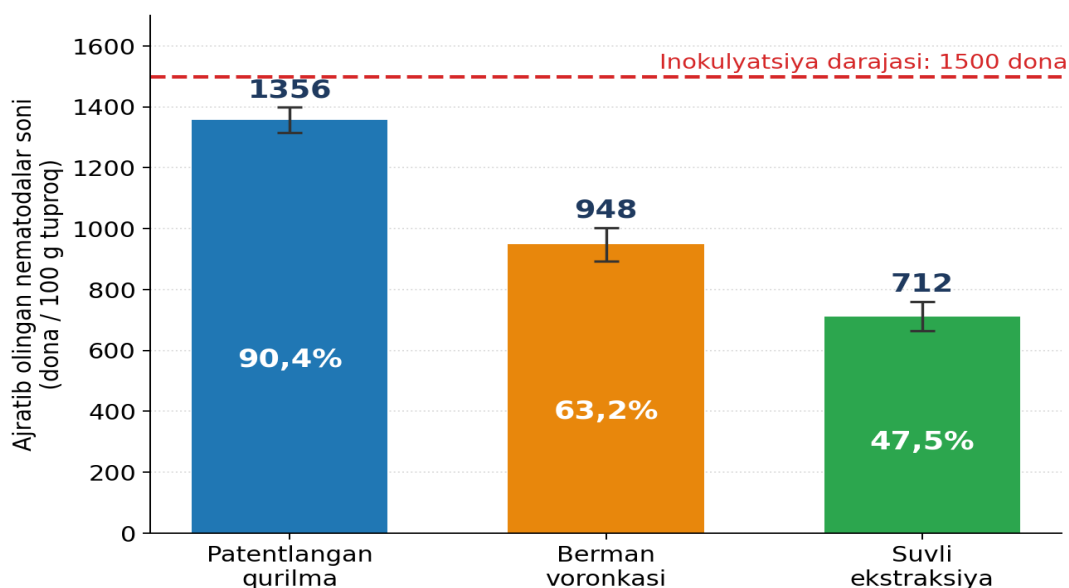
1-jadval.

Uch usulning asosiy ko'rsatkichlar bo'yicha qiyosiy tahlili ($M \pm m$, $n=5$).

Ko'rsatkich	Maxsus qurilma	Berman voronkasi	Suvli ekstraktsiya
Ajratib olingan nematodalar soni, dona/100 g	1356 ± 42	948 ± 55	712 ± 48
Ekstraksiya samaradorligi, %*	90,4	63,2	47,5
Ajratib olish vaqti, soat	$4,0 \pm 0,3$	$24,0 \pm 1,2$	$11,5 \pm 0,8$
Suv sarfi, l	0,25	0,80	1,20
Tirik (faol) nematodalar ulushi, %	$96,8 \pm 1,1$	$87,5 \pm 2,3$	$78,2 \pm 3,1$
Mehnat sarfi, nisbiy ball**	1,0	2,8	2,2

* 1500 donaga inokulyatsiya qilinganga nisbatan; ** eng kam mehnat sarfi 1,0 deb qabul qilingan.

Eng sezilarli farq ajratib olingan nematodalar soni bo'yicha kuzatildi (2-rasm). Maxsus qurilma 100 g tuproqdan o'rtacha 1356 ta lichinkani ajratib oldi, ya'ni inokulyatsiya qilingan miqdorning 90,4 % ini qaytardi. Berman voronkasi bu ko'rsatkichning atigi 63,2 % ini (948 dona), suvli ekstraktsiya esa 47,5 % ini (712 dona) ta'minladi. Shunday qilib, qurilma Berman voronkasiga nisbatan 43,0 % ko'p va suvli ekstraktsiyaga nisbatan 1,9 baravar ko'p nematodani ajratib oldi ($p < 0,05$).

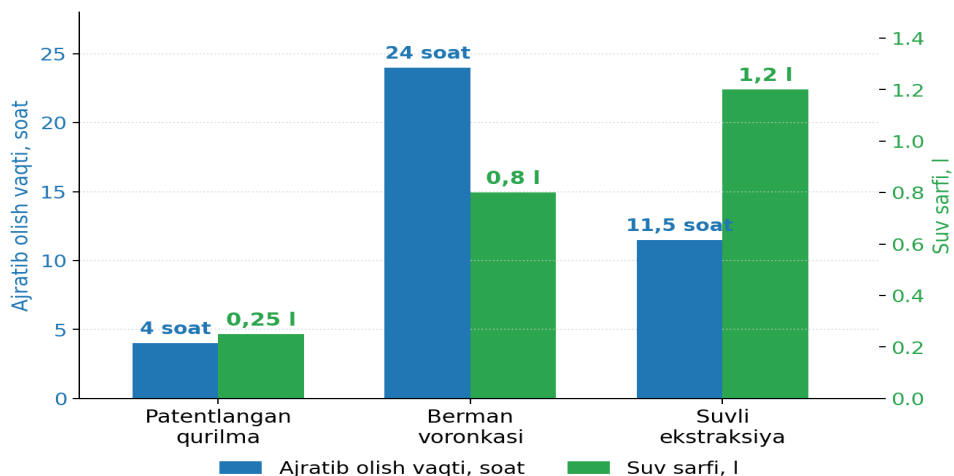


2-rasm. Turli usullar bo'yicha ajratib olingan EPN miqdori va ekstraktsiya samaradorligi

Qurilmaning ustunligi tezlik va resurs sarfi bo'yicha yanada yaqqolroq namoyon bo'ladi (3-rasm). Ajratib olish jarayoni atigi 4 soatda yakunlandi — bu Berman voronkasiga (24 soat) nisbatan 6 baravar va suvli ekstraktsiyaga (11,5 soat) nisbatan 2,9 baravar tezdir. Yopiq

AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

sirkulyatsiya tufayli bitta namunaga atigi 0,25 litr suv sarflandi, bu Berman voronkasiga nisbatan 3,2 baravar va suvli ekstraksiyaga nisbatan 4,8 baravar kamdir.



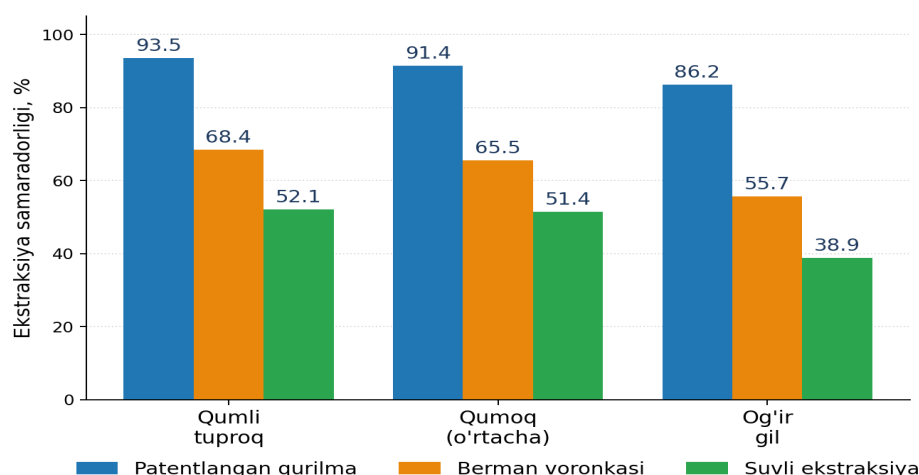
3-rasm. Ajratib olish vaqti va suv sarfi bo'yicha qiyoslash

Tuproqning mexanik tarkibi barcha usullarning samaradorligiga ta'sir ko'rsatdi, biroq maxsus qurilma og'ir tuproqlarda ham barqaror yuqori natija berdi (2-jadval, 4-rasm). Og'ir gilli tuproqda Berman voronkasining samaradorligi 55,7 % gacha, suvli ekstraksiyaniki esa 38,9 % gacha pasaydi, qurilma esa 86,2 % ko'rsatkichni saqlab qoldi. Buning sababi shundaki, faol aeratsiya va boshqariladigan harorat zich tuproqda ham nematodalar migratsiyasini rag'batlantiradi.

2-jadval.

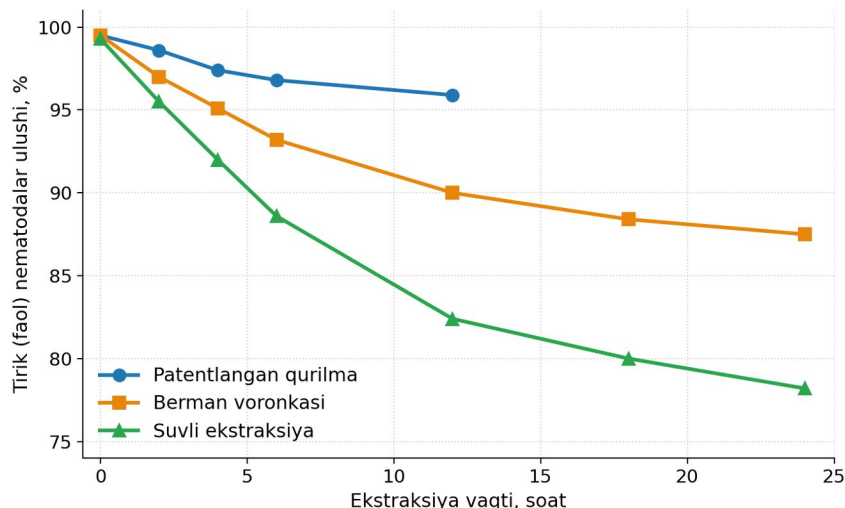
Tuproq turlari bo'yicha ekstraksiya samaradorligi, %

Tuproq turi	Mexanik tarkibi	Maxsus qurilma	Berman voronkasi	Suvli ekstraksiya
Qumli tuproq	yengil	93,5	68,4	52,1
Qumoq	o'rtacha	91,4	65,5	51,4
Og'ir gilli tuproq	og'ir	86,2	55,7	38,9
O'rtacha	—	90,4	63,2	47,5



4-rasm. Tuproq turlari bo'yicha ekstraksiya samaradorligi

Ajratib olingan nematodalarning sifat ko'rsatkichi - ularning faolligi - ham muhim ahamiyatga ega. 5-rasmda ekstraksiya davomida tirik lichinkalar ulushining dinamikasi keltirilgan. Maxsus qurilmada nematodalar faolligi 4 soatdan keyin 96,8 % darajasida saqlanib qoldi, Berman voronkasida 24 soatdan so'ng 87,5 % gacha, suvli ekstraksiyada esa 78,2 % gacha pasaydi. Suvli ekstraksiyada faollikning keskin pasayishi mexanik ta'sir va kislorod yetishmasligi bilan bog'liq.



5-rasm. Ekstraksiya davomida nematodalar faolligining dinamikasi

Maxsus qurilmaning umumlashtirilgan nisbiy ustunligi 3-jadvalda jamlangan. Qurilma nafaqat ko'proq va sifatliroq nematodalarni ajratib oladi, balki vaqt va suvni bir necha barobar tejaydi. Bu uning ham ilmiy-tadqiqot laboratoriyalarida, ham EPN biopreparatlarini ishlab chiqarishda samarali qo'llanish imkoniyatini ko'rsatadi.

3-jadval.

Maxsus qurilmaning an'anaviy usullarga nisbatan ustunligi

Ko'rsatkich	Berman voronkasiga nisbatan	Suvli ekstraksiyaga nisbatan
Ajratib olingan nematodalar soni	+43,0 % ko'p	1,9 baravar ko'p
Ajratib olish tezligi (vaqt)	6,0 baravar tez	2,9 baravar tez
Suv sarfi	3,2 baravar kam	4,8 baravar kam
Faol nematodalar ulushi	+9,3 %	+18,6 %

Xulosa. O'tkazilgan qiyosiy tadqiqot natijalari muallif tomonidan ishlab chiqilgan maxsus qurilmaning tuproqdan entomopatogen nematodalarni ajratib olishning an'anaviy usullaridan barcha asosiy ko'rsatkichlar bo'yicha ustunligini miqdoriy jihatdan tasdiqladi:

1. qurilma 100 g tuproqdan o'rtacha 1356 ta nematodani ajratib oldi — bu Berman voronkasiga nisbatan 43,0 % ko'p va suvli ekstraksiyaga nisbatan 1,9 baravar ko'p;
2. ajratib olish vaqti 4 soatgacha qisqardi, ya'ni Berman voronkasiga nisbatan 6 baravar va suvli ekstraksiyaga nisbatan 2,9 baravar tez;
3. yopiq sirkulyatsiya hisobiga suv sarfi atigi 0,25 litrni tashkil etdi, bu an'anaviy usullarga nisbatan 3,2–4,8 baravar kam;
4. ajratib olingan nematodalar faolligi 96,8 % darajasida saqlanib qoldi, bu biopreparat sifatini ta'minlash uchun muhim.

Shunday qilib, maxsus qurilma yuqori samaradorlik, tezlik va resurs tejamliligi bilan ajralib turadi hamda EPN bilan bog'liq ilmiy-tadqiqot va ishlab chiqarish jarayonlarida keng qo'llanish istiqbollarga ega.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.

1. Baermann G. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben // Geneesk. Tijdschr. Ned.-Indie. - 1917. - Bd. 57. - S. 131–137.
2. White G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures // Science. - 1927. - Vol. 66. - P. 302–303.
3. Bedding R.A., Akhurst R.J. A simple technique for the detection of insect-parasitic rhabditid nematodes in soil // Nematologica. - 1975. - Vol. 21. - P. 109–110.
4. Kaya H.K., Stock S.P. Techniques in insect nematology // Manual of Techniques in Insect Pathology / ed. L.A. Lacey. - London: Academic

Press, 1997. - P. 281–324.

5. Lacey L.A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D.I. et al. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future // Journal of Invertebrate Pathology. - 2015. Vol. 132. - P. 1–41.

6. Shapiro-Ilan D.I., Han R., Qiu X. Production of entomopathogenic nematodes // Mass Production of Beneficial Organisms. - Academic Press, 2014. - P. 321–355.

7. Stock S.P., Goodrich-Blair H. Entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts: the inside out of a mutualistic association // Symbiosis. - 2008. - Vol. 46. - P. 65–75.

8. Karimova R.M. Tuproq entomopatogen nematodalari namunalarini olish uchun portativ qurilma. Ixtiro patenti № IAP 8028 / Intellektual mulk agentligi. – Toshkent, 2025.