

TRICHODERMA ТУРКУМИГА МАНСУБ БЎЛГАН МАҲАЛЛИЙ АНТАГОНИСТЛАР СКРИНИНГИ

Хакимов Альберт Ахмедович, доцент,
Омонлиқов Алишер Уразалиевич, катта ўқитувчи,
Тошкент давлат аграр университети,
Утаганов Самад Бобомурод ўғли, илмий ходим,
Ўсимликлар карантини ва ҳимояси илмий-тадқиқот институти.

Аннотация. Қишлоқ хўжалиги экинларининг касалликларига қарши биологик назорат агентларини қўллаш кимёвий кураш ўрнини босиши учун муқобил усулга айланиб бормоқда. *Trichoderma* туркуми антагонист замбуруғлари ўсимликларнинг кўпгина касалликлари кўзгатувчиларига қарши потенциал биологик назорат агенти сифатида кенг қўлланилади. Бионазорат агенти сифатида танланган *Trichoderma* штамм-антагонисти - фитопатоген турларга нисбатан юқори антибиотик, гиперпаразитик ва лизисловчи фаолликни намоён қилиши; ҳарорат, pH ва бошқа абиотик омилларни кенг диапазонида ривожлана олиши; тупроқда ёки бошқа субстратларда яхши сақланиб, фаол кўпая олиши керак. Ушбу мақола айнан юқори антагонистик фаолликка эга маҳаллий *Trichoderma* туркуми изолятларини скрининг қилишга бағишланган. Ўтказилган тажрибалар натижасида тупроқ фитопатоген замбуруғларига қарши самарали бўлган *Trichoderma* туркуми изолятлари скрининг қилинган.

Калим сўзлар: бионазорат агенти, *Trichoderma*, антагонист микроорганизмлар, тупроқ фитопатоген замбуруғи, скрининг.

Аннотация. Использование агенты биологического контроля против болезнями сельскохозяйственных культур становится альтернативным методом замены химического контроля. Грибы-антагонисты рода *Trichoderma* широко используются в качестве потенциальных агента биологического контроля против многими фитопатогенами. Штамм-антагонист триходермы, выбранный в качестве агента биоконтроля, должен проявлять высокую антибиотическую, гиперпаразитарную и лизирующую активность в отношении фитопатогенных видов. Кроме того, он должен быть способен развиваться в широком диапазоне температур, pH и других абиотических факторов, а также выживать и активно размножаться в почве или других субстратах. Статья посвящена скринингу местных изолятов триходермы с высокой антагонистической активностью. В результате проведенных экспериментов был проведен скрининг изолятов триходермы, эффективных против почвенных фитопатогенных грибов.

Ключевые слова: агенты биоконтроля, *Trichoderma*, микробные антагонисты, почвенный грибковый фитопатоген, скрининг.

Abstract. The use of biological control agents against crop diseases is emerging as an alternative method to replace chemical control. Antagonistic fungi of the genus *Trichoderma* are widely used as potential biological control agents against many plant pathogens. The selected *Trichoderma* antagonist strains as a biocontrol agent should exhibit high antibiotic, hyperparasitic and lysis activity against phytopathogenic species. In addition, it must be able to develop in a wide range of temperatures, pH and other abiotic factors, as well as survive and actively reproduce in soil or other substrates. The article is devoted to the screening of local *Trichoderma* isolates with high antagonistic activity. As a result of the experiments, were screened *Trichoderma* isolates effective against soil-borne plant pathogenic fungi.

Keywords: biocontrol agent, *Trichoderma*, microbial antagonists, soil-borne fungal pathogen, screening.

Кириш. Пестицидларни инкор этиб бўлмайдиган зарари мутахассисларни улардан фойдаланишни камайтиришни ўйлашга мажбур қилмоқда ва ўз ўрнида кўплаб глобал компаниялар уларни ўрнини босиш учун ҳар хил восита, тизим ва маҳсулотларни таклиф қилиб келмоқда. Муқобил вариантлар орасида барқарор ва органик қишлоқ хўжалиги, генетик ўзгартирилган организмлардан фойдаланиш, биологик пестицидлар яратиш ва қўллаш кабилар мавжуд.

Бир неча ўн йиллардан бери фитопатогенларни назорат қилиш учун биологик кураш усуллари қўлланилиб келинмоқда. Бунда микроорганизмлар биомассаси тупроққа киритилган ҳолда, уруғлар билан аралаштирилиб, кўчатлар илдиэлари биопрепарат эритмаларига ботирилиб ҳамда тўғридан тўғри барглار устига пуркалган ҳолда ишлатилган [37]. Биологик назорат учун кўплаб таърифлар мавжуд. Оддий

қилиб айтганда, биологик кураш зараркунанда организмларни бошқа организмлар билан тўхтатишни ёки йўқ қилишни ўз ичига олади. Асосий ғоя микроорганизмларни тўғридан-тўғри ёки билвосита манипуляция қилиш йўли билан касалликнинг тарқалиши ёки ривожланишини камайтириш стратегиясини ўз ичига олади [32].

Бугунги кунда биологик назорат концепцияси нафақат экин экиш тизимларига антагонистларни киритишни, балки алмашлаб экиш, ўсимлик қолдиқларини бошқариш ва бошқа кенг кўламли маданий тадбирлар орқали доимий фойдали организмларга ёрдам беришга мўлжалланган атроф-муҳитни манипуляция қилишни ҳам ўз ичига олади.

Патогенни назорат қилиш учун ишлатиладиган фойдали организм биологик назорат агенти (БНА) деб аталади. Замбуруғлар ва бактериялар ўсимликларда ка-

саллик қўзғатувчилар, хусусан, тупроқдаги фитопатоген замбуруғларни назорат қилиш учун ўрганилган энг асосий биологик назорат агентларидир [39].

Биологик назорат табиий равишда содир бўлиши мумкин ва патогенлар ва уларнинг антагонистлари ўртасидаги экологик мувозанатга олиб келадиган самарали омил ҳисобланади. Ўсимликлар ёки микроорганизмлар ажратадиган кимёвий моддалар билан қарши курашиш биологик назорат қилишга крмайди. Биологик назорат ёки биологик ҳимоя қилиш - бу популяция даражасидаги жараён бўлиб, унда бир тур популяцияси йиртқичлик, паразитлик, патогенлик ёки антагонизм каби механизмлар ҳисобига бошқа турнинг миқдорини камайтиради [38].

Ўсимлик касалликлари қўзғатувчиларига қарши биологик курашнинг асосий жиҳатлари учта категорияга ажратилади:

1. Патоген биомассасини йўқ қиладиган, инокулянтнинг кучини ёки агрессивлигини камайтирадиган антагонистик микроорганизмлардан фойдаланиш орқали патоген популяциясини камайтириш;

2. Рақобатбардош, антибиотик ёки паразитар таъсир қилувчи микроорганизмлар билан ўсимликлар юзасини, барглари ва ризосферасини патоген микроорганизмлардан ҳимоя қилиш яъни биологик тўсиқ бўлиш;

3. Зарарланган ҳудудда патоген бўлмаган микроорганизмлар ёки агентларни пайдо қилиш, ўсимликнинг патогенга нисбатан чидамлилигини ошириш ёки инфекцияланган жойни эгаллаш ва патогенни озикадан қолдириш, уни зарарланган зонадан сиқиб чиқариш [20, 34].

Trichoderma spp. ўсимликларнинг кўпгина касалликларига қарши потенциал биологик назорат агенти сифатида чуқурроқ ўрганилган [18]. *Trichoderma* spp. турлари бўйича олиб борилган тадқиқотларнинг аксарияти уларнинг патоген замбуруғларга қарши БНА сифатидаги фаолияти билан боғлиқ [24, 35, 36]. *Trichoderma* spp. нинг антагонистик фаоллиги бир нечта синергик механизмларга боғлиқ [27]. Буларга антибиоз, паразитизм, ҳўжайин ўсимликнинг чидамлилиги, рақобат, хитинолитик ферментлар секрецияси, микопаразитизм ва ингибирловчи моддалар ишлаб чиқариш каби турли механизмлар киради [26]. *Trichoderma* биологик фаолликка эга бўлган бир қатор иккиламчи метаболитлар ишлаб чиқаради [23, 25]. Кўпгина изолятлар кучли оппортунистик бўлиб, тез ўсади, кўплаб споралар ҳосил қиладиган ҳамда кучли антибиотиклар ишлаб чиқаради. Шундай қилиб, бу антагонистик замбуруғ экологик жиҳатдан муваффақиятли тур ҳисобланади ва изолятлар барча зоналарда аниқланган [33].

Истиқболли штаммларни танлаш учун маълум бир минтақанинг маҳаллий изолятлари орасидан фаол бўлган изолятларни қидириш амалга оширилади. Чунки бир ҳудудга мослашган ва шу шароитдан ажратилган *Trichoderma* туркуми турлари, бошқа шароитда фаол бўлолмайди. Баъзи тадқиқотчилар бу ҳолатни ҳар қандай турдаги тупроқларда кенг тарқалган *Trichoderma* туркуми турлари ўртасидаги яшаш майдони ва озиқ-овқат манбалари учун ўзаро рақобат билан боғлашади [1].

Бионазорат агенти сифатида танланган *Trichoderma* штамм-антагонисти - фитопатоген турларига нисбатан юқори антибиотик, гиперпаразитик ва лизисловчи фаолликни намоён қилиши; ҳарорат, рН ва бошқа абиотик омилларни кенг диапозонида ривожлана олиши; тупроқда ёки бошқа субстратларда яхши сақланиб, фаол кўпая олиши керак [2].

Ўзбекистон Республикаси қишлоқ ҳўжалигида ишлатиш учун руҳлат этилган биофунгицидларнинг 80% дан ортиғи хориждан келтирилган тайёр препаратлар ёки хориждан катта

ҳажмда келтирилиб Ўзбекистонда қадоқланаётган препаратлардир. Яъни бу БНА ларнинг келиб чиқиши маҳаллий эмас.

Республикаимизда *Trichoderma* spp. асосли биопрепаратларни касалликларга қарши қўллаш бўйича бир қатор илмий тадқиқотлар амалга оширилган бўлиб, буларга Х.Тиллаев [6, 7, 8], А.Ҳақимов [11, 14], А.Ҳақимов ва б. [15], Э.А.Кузиев [3] ва Н.Тилляходжаева [9, 10] лар киради. Шундай бўлсада, маҳаллий антагонистларни скрининг қилиш бўйича махсус илмий тадқиқот ишлари деярли амалга оширилмаган.

Республикаимизни иқлимнинг кескин континенталлиги, хусусан вегетация давридаги юқори ҳарорат, паст намлик, кўёш радиацияси (шу жумладан юқори УБ нурланиш индекси) хориждан келтирилган биофунгицидлар самарадорлигини очиқ дала шароитида кескин пасайтиради. Бундан ташқари, импорт қилинган биологик фунгицидлар таннархини юқори бўлиши илмий жамоалар ва олимлар олдига маҳаллий биологик назорат агентларини скрининг қилишга бўлган талаб қўяди.

Юқоридагиларни инобатга олган ҳолда, қишлоқ ҳўжалиги экинлари экиладиган майдонлардан *Trichoderma* туркумининг маҳаллий изолятларини скрининг қилиш бўйича тадқиқотлар ўтказилди. Бунда қалампир ва помидорда касаллик қўзғатадиган яъни уларнинг зарарланган намуналаридан ажратилган *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*, *Fusarium solani* ва *Sclerotinia sclerotiorum* тупроқ фитопатогенларига қарши синовдан ўтказиш бўйича тажрибалар амалга оширилди.

Тадқиқот усуллари ва материаллари. Тупроқ фитопатоген замбуруғлари ва маҳаллий антагонистларнинг соф культурасини ажратиш, уларни қайта экиш ва сақлашда оч агар, картошкали декстрозали агар (ҚДА), сусло агар каби озиқа муҳитларидан фойдаланилди. Озиқа муҳитларни таркиби ва уни тайёрлаш кетма-кетлиги, стерилизация қилиш ва сақлаш микология ва фитопатологияда умумқабул қилинган усуллар ёрдамида амалга оширилди [5, 17].

Trichoderma spp. туркуми изолятларини ризосфера тупроқларидан ажратиш олиш учун суюлтириш усулидан (Ваксман методи) фойдаланилди. Ажратилган суспензия модификация қилинган ҚДА (рифампицин 50 мкг/мл + хлороталонил 1,25 мкг/мл) озиқа муҳитига экилди ва 28°C да инкубацияга қўйилди. Петридаги униб чиққан колониялар сони ҳисоблаб чиқилди ва тупроқдаги замбуруғларнинг умумий сони (кхқб/г) аниқланди. Бошқа замбуруғлардан икки марта субкультурада ёрдамида тозаланди ва кейинги тажрибагача совуткида 4°C да сақланди [27].

У.Гамс ва Ж.Биссетт [22] лар тавсифи келтирган аниқлагич асосида *Trichoderma* туркуми турлари морфологик идентификация қилинди. Микроскопия Optika B-290 ва Микмед-5 биологик микроскопларида олиб борилди.

Trichoderma spp. туркуми изолятларининг молекуляр-генетик идентификацияси (тадқиқотларда фитопатоген микроорганизмларга юқори антагонистик фаолликни намоён қилган 2 та изолят), амплификация қилинган ДНК фрагментларининг сиквенсини натижасида амалга оширилди. Нуклеотидлар изчиллигини текислаш ва тўғрилаш UGENE (UniPro, Россия) ва ClustalX дастурларида бажарилганидан сўнг, BLAST (Basic local alignment search tool) қидирув инструменти ёрдамида NCBI (National Center for Biotechnology Information, АҚШ) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) генетик маълумотлар базасига таққосланган ҳолда турлар идентификация қилинди.

Trichoderma туркуми изолятларининг фитопатоген замбуруғларга нисбатан антагонистик фаоллиги "қарама қарши колония" ("икки культура") усули) усули асосида аниқланди.

«Қарама қарши колония» усулида тажриба ўтказиш учун 7 кунлик патоген ва антагонист культураларидан фойдаланилди. Петри ликобчаси марказдан икки томонга 2.5 см дан қарама-қарши равишда антагонист ва патоген блоклари (0.5 см) экилиб, 24-25°C ҳароратли термостатга қўйилди. Кунлик кузатувлар олиб борилганда, колониялар радиуси ўлчаб борилди. Тажрибада *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium solani* ва *Sclerotinia sclerotiorum* тупроқ фитопатоген замбуруғлари культураларидан фойдаланилди. Тажрибалар 5 қайтариқда амалга оширилди. Патоген изолятларининг радиал ўсиши 3, 5 ва 7-кунлари ҳисобга олинди. Назорат варианты билан таққослаш орқали антагонист изолятларини фитопатогенларга таъсири, яъни уни мицелиал ўсишини ингибирлаш кўрсаткичлари қуйидаги формула ёрдамида аниқланди:

$$R = \frac{C - T}{C} \times 100;$$

Бу ерда, *R*-мицелий ўсишининг ингибирлаш кўрсаткичи, %; *C*-Назорат вариантыда патогеннинг радиал ўсиши, мм; *T*-Тажриба вариантыда патогеннинг радиал ўсиши, мм [5, 19, 21].

Тадқиқот натижалари ва уларнинг муҳокамаси. Тошкент ва Фарғона вилоятларидан келтирилган ризосфера тупроқлари намуналаридан суялтириш усули ёрдамида дастлаб жами 18 та *Trichoderma* spp. изолятлари соф культуралари ажратиб олинди. Ажратилган изолятлар орасидан намуналар келтирилган ҳудуд ҳамда изолятларнинг ўсиш тезлигига қараб 6 та *Trichoderma* spp. туркуми турлари ажратиб олинди. *Trichoderma* spp. турларини ҚДА озиқа муҳитида изоляция қилинди ва моноспора ҳолида ажратиб олиниб, дастлаб микроскопия орқали дастлабки морфологик идентификация қилинди.

Морфологик идентификацияга кўра, ажратилган изолятлар *Trichoderma harzianum* Rifai (№61, №62, №75), *Trichoderma viride* Pers (№63, №87), *Trichoderma hamatum* (Bon.) Bain. (№68) турлари эканлиги аниқланди. Бундан ташқари, тупроқ фитопатоген замбуруғларига қарши юқори антагонистик фаолликни намоён қилган *Trichoderma* туркумининг №62 ва №63

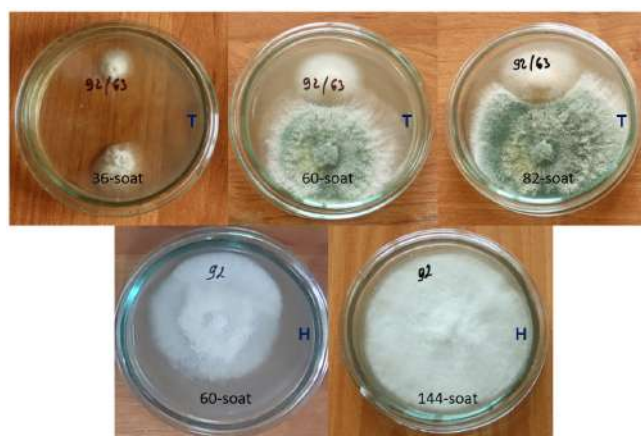
изолятлари молекуляр-генетик идентификация қилинди. Ўтказилган молекуляр-генетик идентификацияга кўра, морфологик идентификация қилиш натижасида *Trichoderma harzianum* сифатида аниқланган №62 изолят, бу методда ҳам *Trichoderma harzianum* деб аниқланган бўлса (GenBank Accession number = PP400390), морфологик идентификация натижасида *Trichoderma viride* деб аниқланган №63 изолят эса, ДНК сиквенс натижасига кўра *Trichoderma asperellum* (GenBank Accession number = PP177538) эканлиги маълум бўлди. Ушбу ҳолатни *Trichoderma* туркумининг *Trichoderma* секциясига мансуб бўлган бу икки бир бирига яқин турларни морфологик аниқ идентификация қилиш мушкул эканлигидан далолат беради.

Trichoderma туркуми изолятларининг помидордан ажратилган ва унда касаллик кўзғатадиган *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ва *Sclerotinia sclerotiorum* фитопатоген замбуруғларига нисбатан антагонистик фаоллиги «қарама қарши колония» («икки культура» усули) усули асосида аниқланди (1-жадвал). *Trichoderma* изолятлари орасида ўсишни ингибирлаш кўрсаткичи бўйича максимал кўрсаткич №63 (*Trichoderma asperellum*) изолятида қайд этилиб, *Fusarium oxysporum* (92) га нисбатан 75,2%, *Sclerotinia sclerotiorum* га нисбатан эса 72,2% ни ташкил қилди. Тажрибада №61- *Trichoderma harzianum* (52,6 ва 53,2% ни), №75 - *Trichoderma harzianum* (48,2 ва 44,2% ни) ва №87 - *Trichoderma viride* (48,0 ва 45,7% ни) изолятлари нисбатан паст ингибир-

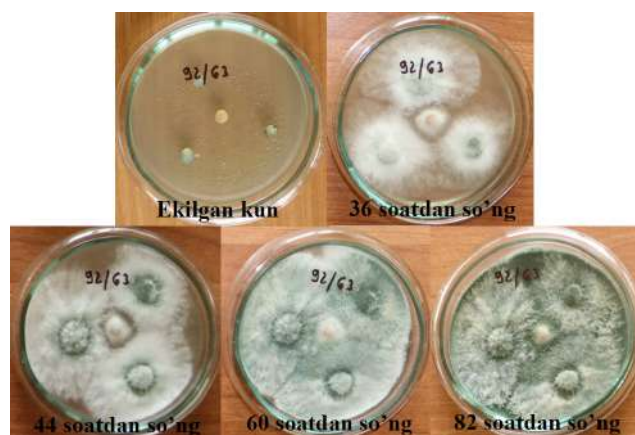
1-жадвал.

***Trichoderma* spp. изолятларини помидорда касаллик кўзғатадиган *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ва *Sclerotinia sclerotiorum* фитопатогенлари мицелийларини ўсишини ингибирлаш кўрсаткичлари.**

№	Антагонист замбуруғ изолятлари	Фитопатоген замбуруғ изолятлари		Ўртача, %
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	
		Ўсишни ингибирлаш кўрсаткичи,%		
1.	№61	52,6	53,2	52,9
2.	№62	69,4	65,3	67,35
3.	№63	75,2	72,2	73,7
4.	№68	62,1	60,8	61,45
5.	№75	48,2	44,4	46,3
6.	№87	48	45,7	46,85



1-расм. «Икки ёки қарама-қарши культуралари агарли блок» усулида антагонистик фаолликни аниқлаш (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)



2-расм. Уч томонли агарли блок усулида антифунгал фаолликни аниқлаш (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

лаш кўрсаткичини намоён қилган бўлса, №62 - *Trichoderma harzianum* (69,4 ва 65,3% ни) ва №68 - *Trichoderma hamatum* (62,1 ва 60,8% ни) изолятлари патоген ривожланишини ўртача ингибирлаш кўрсаткичини намоён қилди.

Шунингдек, кузатувларда №62 ва №63 муҳитда тез ўсиши билан биргаликда ўзидан патоген ҳужайраси деворларини парчаловчи хитиназа ва глюканаза каби гидролитик ферментлар ажратиши ҳисобига уларни мицелийсини нобуд қилиши аниқланди. Бу жараёни антагонист ва патоген мицелийларининг дастлабки учрашувида кўриш мумкин. Петри ликобчаси марказида патогеннинг агарли блоки (0,5 см) ва уч томонлама №63 (*Trichoderma asperellum*) изоляти агарли блоклари экилганда, инокуляциядан 82 соат ўтгач (3.5 кун), патоген ўсишини дастлабки нуқтасига қадар ингибирлади ва мицелийларини тўлиқ нобуд қилди (1, 2-расмлар).

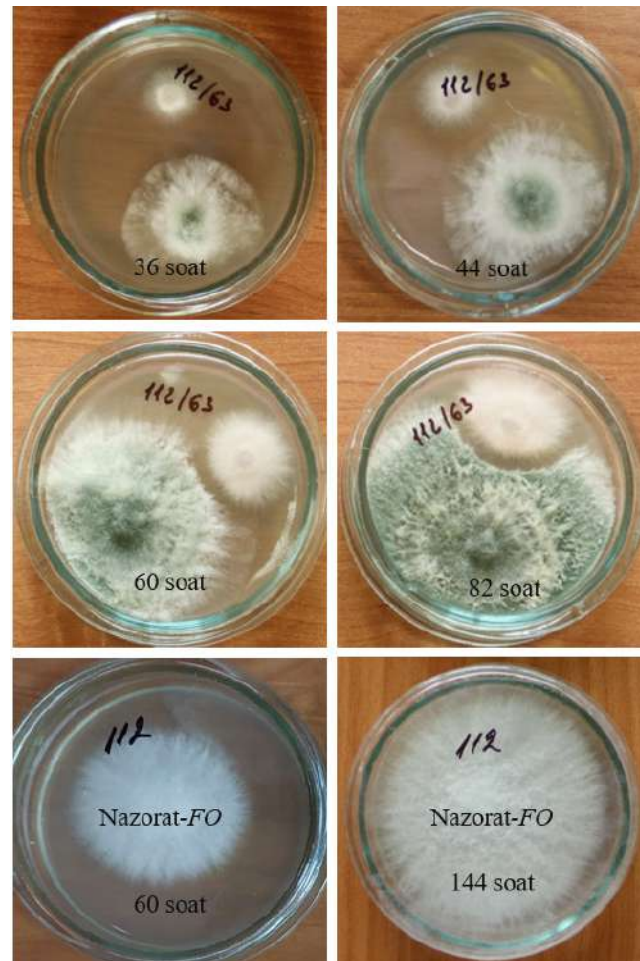
Тажрибада бир турга мансуб бўлган *Trichoderma harzianum* Rifai нинг №61, №62, №75 изолятларининг антагонистик фаоллиги турлича бўлди ва бу изолятлар орасида энг юқори кўрсаткич №62-изолятда қайд этилди.

Шундай қилиб ўтказилган юқоридаги тажриба, помидорнинг касалланган намуналаридан ажратилган *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ва *Sclerotinia sclerotiorum* фитопатоген микромицетларига қарши юқори антагонистик фаолликни намоён қилган *Trichoderma asperellum* турининг истиқболли №63 изолятини аниқлаш имконини берди.

Trichoderma изолятлари (№61, №62, №63, №68, №75, №87) Қалампирда касаллик қўзғатадиган *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* ва *Fusarium solani* патогенлари мицелийларини ўсишини, назоратга нисбатан солиштирганда сезиларли даражада ингибирлаганлиги (42.8-76.4%) маълум бўлади. Патоген ва антагонист учун қулай бўлган озиқа муҳитида (ҚДА) ва бир хил ҳарорат (24-25°C) шароитида антагонистлар фитопатогенларга (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*) нисбатан тезроқ ўсиши қайд этилди. Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, *Trichoderma* нинг №63 изоляти бошқа изолятларга нисбатан юқори антагонистик фаолликни қайд этиб, *Fusarium oxysporum* да ўсишни ингибирлаш кўрсаткичи 75.6%ни, *Fusarium solani* да эса 74.2%ни ташкил қилди. Кейинги юқори антагонистик фаоллик эса №62 изолятда кузатилиб, унда ингибирлаш кўрсаткичи 71.2 ва 71.4% бўлди (2-жадвал, 3-расм).

Тажрибада синовдан ўтказилган барча антагонист изолятлари *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* ва *Fusarium solani* колонияларини ўсишини ингибирлади. Микроскопик кузатувлар

эса *Trichoderma* изолятлари *Fusarium oxysporum* ва *Fusarium solani* гифалари орасида оммавий ўсишни юзага келтирган бўлсада гифаль ўрашни яъни гиперпаразитизм юзага келмади. Фитопатоген ўсишини чегаралаши *Trichoderma* изолятлари томонидан ҳужайрадан ташқарига чиқариладиган миколитик ферментларни ажратилиши билан изоҳланади.



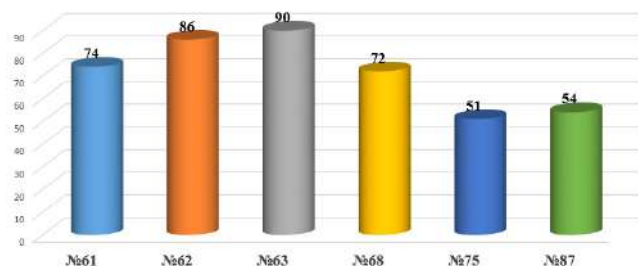
3-расм. “Икки ёки қарама-қарши культурали агарли блок” усулида антагонистик фаолликни аниқлаш (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*)

2-жадвал.

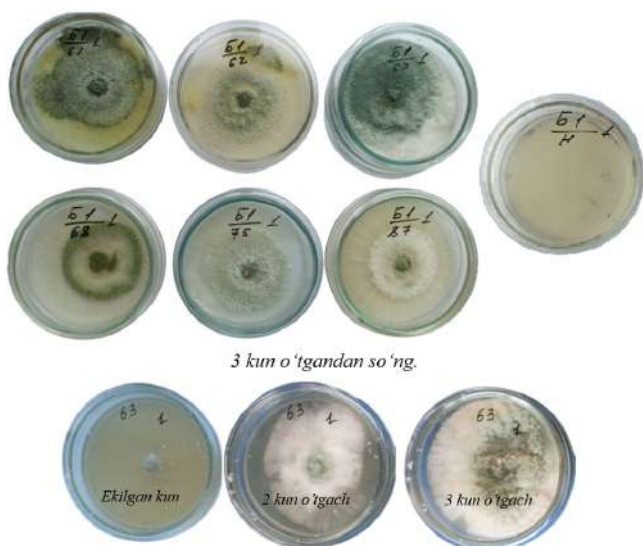
Trichoderma spp. изолятларининг қалампирда касаллик қўзғатадиган *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* ва *Fusarium solani* фитопатогенлари мицелийларини ўсишини ингибирлаш кўрсаткичлари.

№	Антагонист замбуруғ изолятлари	Фитопатоген замбуруғ изолятлари		Ўртача, %
		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>capsici</i>	<i>Fusarium solani</i>	
		Ўсишни ингибирлаш кўрсаткичи,%		
1.	№61	54.8	54.0	54.4
2.	№62	71.2	71.4	71.3
3.	№63	76.4	74.2	75.3
4.	№68	64.1	63.0	63.55
5.	№75	42.8	48.4	45.6
6.	№87	48.2	44.1	46.15

Юқорида келтирилган “икки ёки қарама-қарши культура-ли агарли блок” усулидан ташқари антагонист фаоллигини аниқлашда “суяқ культура-агарли блок” усулидан ҳам фойдаланилди [5]. Бунда фитопатоген *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* замбуруғининг (В-1 изоляти) 7-кунлик суяқ культураси



4-расм. In vitro шароитида антагонист замбуруғларни тупроқ фитопатоген замбуруғи мицелияларини ўсишини ингибирлаш кўрсаткичлари.



5-расм. *Trichoderma* spp. изолятларини антагонистик фаоллигини аниқлаш (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*).

тайёрланиб, стерил қаттиқ озиқа муҳити (ҚДА) муҳити юзасига 0.3 мл ҳисобида қуйилиб, шпатель ёрдамида ёйиб чиқилди. Ундан сўнг 7 кун давомида қаттиқ муҳитда культурананга антагонист *Trichoderma* spp. изолятлари культурасидан 0.5 см катталиқдаги агарли блок олиниб, фитопатоген *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* замбуруғининг (В-1 изоляти) 7-кунлик суяқ культураси инокуляция қилинган ликобчалар марказига қўйилди ва 25°C ҳароратда инкубация қилинди (4-расм).

Назорат вариантыдаги антагонист замбуруғининг 63 изоляти (яъни патоген суяқ культураси қўшилмаган озиқа муҳитда 1, 2 ва 3-сутка ўстирилган антагонист замбуруғ).

Синовдан ўтказилган барча антагонист замбуруғ изолятлари *F.oxysporum* замбуруғи мицелийлари ривожланиши ингибирлади ёки тўхтатди. Лекин изолятлар орасида “икки культурали агарли блок” усулида юқори натижа кўрсатган №63 ва №62 антагонист изолятлари бу тажрибада ҳам нисбатан юқори антагонистик фаоллигини кўрсатди. Бунда №63 ва №62 изолятлари инокуляциядан тўлиқ 72 соат ўтгач, ликобчаларни 90 ва 86 мм юзасини қоплаб олди (5-расм).

Ушбу тадқиқотлар, ризосфера тупроқларидан ажратилган маҳаллий *Trichoderma* изолятларини юқори антагонистик фаоллиги, яъни айнан микопаразитик фаоллиги мавжудлигини яна бир марта исботлайди ҳамда потенциал бионазорат агенти сифатида фойдаланишни қўллаб қувватлайди.

ХУЛОСАЛАР

Trichoderma туркумига мансуб ажратилган маҳаллий антагонистлар орасидан *Trichoderma asperellum* турига мансуб бўлган №63-изолят, тажрибада фойдаланилган помидор (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ва *Sclerotinia sclerotiorum*) ва қалампирда (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*, *Fusarium solani*) касаллик кўзгатадиган барча тупроқ фитопатоген замбуруғларига қарши юқори антагонистик фаоллигини намоён қилиб, фитопатоген замбуруғлар мицелийлари ўсишини ингибирлаш кўрсаткичлари 72,2-76,6% ни ташкил қилди.

Trichoderma harzianum Rifai турининг №62-изоляти *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* ва *Fusarium solani* тупроқ фитопатоген замбуруғлари мицелийси радиаль ўсишини 71,2-71,4% га ингибирлади.

Дастлабки скрининг қилинган ушбу *Trichoderma* туркуми изолятлари вегетацион тажрибаларда ҳам ижобий натижалар берган тақдирда, улардан биологик назорат агентлари сифатида фойдаланиш мумкин бўлади.

АДАБИЁТЛАР:

1. Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Пространственное распространение грибов рода *Trichoderma* в почвах биологической станции МГУ // Микология и фитопатология. - 1999. - Т.33.- Вып.2. - С.101-106
2. Заика Н.А. Эколого-биологическое обоснование скрининга грибов рода *Trichoderma* для получения и использования биопрепаратов на растительных субстратах: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. – Красн. гос. университет, Красноярск, 2006 - 260 с.
3. Кузиев Э.А. Наиболее вредоносные грибные болезни белокочанной капусты в Ташкентском оазисе и мероприятия по ограничению их развития / Автореф. дисс. канд. с.-х. наук. Киев: 1992. 17с.
4. Минаева О.М. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности: учеб. пособие для вузов / О.М. Минаева [и др.] – Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. – 130 с.
5. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов. Минск: БГУ, -2004. 36 с.
6. Тиллаев Х. Триходерма вилт кушандаси. Тошкент, Меҳнат, 1989, 72 б.
7. Тиллаев Х.Т. Грибы из рода триходерма против вилта хлопчатника в Ферганской долине. Материалы Всесоюзного симпозиума по борьбе с вилтом хлопчатника. -Ташкент, 1964, С. 152-153.
8. Тиллаев Х.Т. Эффективность триходермина в борьбе с вилтом // Хлопководство. -1980. -№12. -С.19.
9. Тилляходжаева Н.Р. Биологическая эффективность применения биопрепарата триходермин против фузариозного увядания хлопчатника // Ўзбекистон аграр фани хабарномаси. -2016. -№3(65). -С. 69-72.
10. Тилляходжаева Н.Р. Восстановление естественного природного баланса микроорганизмов почвы биометодом //

Ўзбекистон аграр фани хабарномаси. -2017. -№1(67). -С. 86-88.

11. Хакимов А. Иссиқхона шароитида ўсимлик касалликларининг тарқалиши ва уларга қарши кураш чоралари. Лекторга ёрдам. Тошкент, Билим жамияти, 1991, 13 б.

12. Хакимов А., Ҳасанов Б., Хамираев У., Ўтаганов С., Д.Азнабакиева, А.Шеримбетов. Қалампирнинг фузариоз касалликлари // Agro Kimyo Himoya va O'simliklar Karantini. – Тошкент. -2021. - №4. - Б. 74-79.

13. Хакимов А.А., Салахутдинов И., Ўтаганов С.Б., Бикметова Д. Ўсимликлар касалликлари диагностикаси ва касаллик қўзғатувчилар идентификациясининг замонавий ва истиқболли усуллари (шарҳ) // Agro Kimyo Himoya va O'simliklar Karantini. – Тошкент. -2021. - №3. - Б. 4-12.

14. Хакимов А.Х. Итоги исследований САНИИЗР по применению триходермы против вертициллёза. Тр. Среднеазиатского НИИ защиты растений, 1981, В 5, С.91-94.

15. Хакимов А.Х., Убайдуллаев Х.Х., Сарымсакова Р.К. В кн.: Применение триходермы в хлопководстве. – Ташкент, Фан, 1982, С.72.

16. Хасанов Б.А., Хакимов А.А., Азнабакиева Д.Т., Хамираев У.К., Утаганов С.Б. Фузариозы сладкого и острого перца (обзор) // Узбекский биологический журнал. -2022. - №1. - С. 33-43.

17. Чумаков А.Е., Минкевич Н.И., Власов Ю.И., Гаврилова Е.А. Основные методы фитопатологических исследований. -М: Колос.1974. -191 с.

18. Agrios G. N. Plant pathology. San Diego: Academic Press. 2005, 952 p.

19. Altinok H.H., Erdoğan O. Determination of the in vitro effect of *Trichoderma harzianum* on phytopathogenic strains of *Fusarium oxysporum* // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. -2015. -№43(2). –P.494-500. DOI:10.15835/nbha4329788

20. Axelrood P.E. Biological control of plant pathogens: principles and strategies. In: Sutherland, J. R.; Glover, S. G. eds. Proceedings of the First Meeting of TIJFRO Working Party s2.07-09. Victoria B.C. Forestry Canada, Pacific Forestry Centre, Rept. 1991. BC-X-331, P.127-132.

21. Bokhari N.A., Perveen K. Antagonistic action of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Fusarium solani* causing root rot of tomato // African Journal of Microbiology Research. – 2012. -№6(44). -P.7193-7197.

22. Gams W., Bissett J. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: Kubicek, C.P. and Harman, G.E., Eds., *Trichoderma and Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy and Genetics*, Taylor & Francis Ltd., London. -P.3-31. 2002. <https://doi.org/10.1201/9781482295320>

23. Ghisalberti, E.L., Sivasithamparan K. 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp // Soil Biology and Biochemistry. -№23. –P.1011–1020.

24. Hanada R.E., Pomella A.W.V., Soberanis W., Loguercio L.L., Pereira J.O. Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao // Biological Control. -2009. -№50, -P.143-149.

25. Harman G.E. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp // Phytopathology. -2006. -№96(2). –P. 190-194. doi: 10.1094/PHYTO-96-0190. PMID: 18943924.

26. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts // Nature Reviews Microbiology. -2004. №2(1). -P. 43-56. doi: 10.1038/nrmicro797. PMID: 15035008.

27. Howell C.R. Selective isolation from soil and separation in vitro of P and Q strains of *Trichoderma virens* with differential media // Mycologia. -1999. -№91 (6). –P.930-934. DOI: 10.1080/00275514.1999.12061103

28. Howell C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant disease: The history and evolution of current concepts // Plant Disease. -2003. Vol. 87. No 1. P. 4-10.

29. Khakimov A., Salakhutdinov I., Omonlikov A., Utaganov S. Traditional and current-prospective methods of agricultural plant diseases detection: A review. 3rd International Conference on Agriculture and Bioindustry (ICAGRI 2021), Banda Aceh, Indonesia, 13-14 October 2021. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Scopus indexed). -2022. -№951(1). 012002. doi:10.1088/1755-1315/951/1/012002

30. Khakimov A.A., Utaganov S.B., Omonlikov A.U. Current status and prospects of the use of biofungicides against plant diseases // GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. -2020. -№13(03). P.119-126. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2020.13.3.0403>

31. Khasanov B.A., Sherimbetov A.G., Adilov B.S., Khakimov A.A. Crop diseases in Uzbekistan caused by the species of the genus *Fusarium*: An Overview [Internet]. *Fusarium - New Developments in Agriculture* [Working Title]. IntechOpen; 2023. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.1003121>

32. Maloy O.C. Plant disease control: principles and practice. John Wiles&Sons Inc. New York. 1993.

33. Monte E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology // International Microbiology. - 2001. -№4(1). –P.1-4. doi: 10.1007/s101230100001. PMID: 11770814.

34. Mukerji K.G., Garg K.L. Biocontrol of Plant Diseases. Volume 1, 2. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida, 1988.

35. Papavizas G.C. Biological control of selected soilborne plant pathogens with *Trichoderma* and *Gliocladium*. In *Biological Control of Plant Diseases, Progress and Challenges for the Future*, ed. Tjamos E.C., Papavizas G.C. and Cook, R.J., pp. 223-241. New York: Plenum Press. 1992.

36. Sahebani N., Hadavi N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* // Soil Biology and Biochemistry. -2008. -№40, -C.2016-2020.

37. Tjamos E.S., Papavizas G.C., Cook R.J., eds. Biological control of plant diseases. New York: Plenum. Lumsden RD, Locke JC. 1992.

38. Van den Driesche R.D., Bellows T.S. Biological Control. Chapman & Hall, London. 1996.

39. Whipps J.M., McQuilken M.P. Aspects of biocontrol of fungal plant pathogens. In: Jones, D.G. (eds) *Exploitation of microorganisms*. Springer, Dordrecht. 1993. P. 45-79. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1532-2_3

TRICHODERMA ТУРКУМИГА МАНСУБ БЎЛГАН МАҲАЛЛИЙ ИЗОЛЯТЛАРНИНГ МОРФОЛОГИК ВА МОЛЕКУЛЯР ИДЕНТИФИКАЦИЯСИ

Хакимов Альберт Ахмедович,
Тошкент давлат аграр университети доценти,
Утаганов Самад Бобомурод ўғли,
Ўсимликлар карантини ва химояси ИТИ илмий ходими,
Омонлиқов Алишер Уразалиевич,
Тошкент давлат аграр университети катта ўқитувчиси.

Аннотация. Экологик тоза органик қишлоқ хўжалигига ўтиш ўсимлик касалликларига қарши бионазорат агентларини қўллашга бўлган эътиборни янада оширади. *Trichoderma* туркуми турлари энг асосий бионазорат агентларидан бири ҳисобланади. Ушбу тадқиқот потенциал деб ҳисобланган *Trichoderma* туркуми турларининг морфологик ва молекуляр идентификациясига бағишланган. Таҷрибаларда морфологик идентификацияни тасдиқлаш мақсадида, *Trichoderma* изолятларининг молекуляр идентификация қилиш учун икки хил ген ҳудудларидан (ITS-Internal transcribed spacer ва EF-Translation elongation factor 1) фойдаланилган. Тадқиқотлар натижасида жами 4 та турга мансуб *Trichoderma* туркумининг маҳаллий изолятлари морфологик ва молекуляр идентификация қилинган.

Калит сўзлар: *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, бионазорат агенти, BLAST, ITS, TEF.

Аннотация. Неблагоприятные последствия использования синтетических фунгицидов и переход к экологически чистому органическому сельскому хозяйству еще больше усиливают внимание к средствам биоконтроля против болезней растений. Виды *Trichoderma* являются одними из наиболее важных агентов биоконтроля. Настоящее исследование посвящено морфологической и молекулярной идентификации местных потенциальных видов *Trichoderma*. В экспериментах, для подтверждения морфологическую идентификацию, проводили молекулярной идентификации изолятов *Trichoderma* и использовали две разные области гена (ITS-внутренний транскрибируемый спейсер и EF-фактор элонгации трансляции). В результате исследований проведена морфологическая и молекулярная идентификация местных изолятов рода *Trichoderma*, относящихся всего к 4 видам.

Ключевые слова: *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, агент биоконтроля, BLAST, ITS, TEF.

Abstract. The negative effects of the use of synthetic fungicides and the shift to organic agriculture are further increasing the focus on biocontrol agents against plant diseases. *Trichoderma* species are among the most important biocontrol agents. The present study focuses on the morphological and molecular identification of local potential *Trichoderma* species. In the experiments, to confirm the morphological identification, molecular identification of *Trichoderma* isolates was carried out and two different gene regions were used (ITS-internal transcribed spacer and EF-translation elongation factor). As a result of the research, morphological and molecular identification of local isolates of the genus *Trichoderma* was carried out, belonging to only 4 species.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, biocontrol agent, BLAST, ITS, TEF.

Кириш. *Trichoderma* туркуми турлари ўсимликларда касаллик қўзғатувчи кенг доирадаги патогенларга қарши антагонистик хусусиятга эгалиги ва ўсимликлар ўсишини рағбатлантириши маълум ҳамда [11] улар орасида *T. harzianum* энг кўп ўрганилган ва бионазорат учун фойдаланиладиган турлардан бири бўлиб, кейинги ўринларда эса *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* ва *T. pseudokoningii* лар туради [21].

Trichoderma spp. *Fusarium*, *Pythium* ва *Rhizoctonia* spp. каби тупроқ орқали юқадиган патогенларга қарши биологик назорат воситаси сифатида ишлатилади [20, 22]. Улар антибиотик ишлаб чиқариши, патогеннинг хужайра деворини бузувчи ферментлар ажратиши, шунингдек микопаразитизм механизмлари ҳамда озиқа ва ҳудуд учун рақобат кабилар ҳисобига бионазоратни таъминлайди [14, 15]. Бироқ, бу моддаларни ишлаб чиқариш қобилияти ва хусусиятлари турларо ва бир турга мансуб изолятлар ўртасида фарқ қилиши мумкин. Бунда баъзи изолятлар биологик назорат учун муҳим

бўлган метаболитларни ишлаб чиқарса, бошқалари эса фақат ўсимлик ўсишини рағбатлантиради. Бу ҳолат тўғри таксономик идентификацияни талаб қилади [8, 13].

Trichoderma турларининг морфологик идентификацияси колонияларнинг ранги, характеристикаси, ўсиш тезлиги, спора ҳосил қилиши, склероцияларини ҳосил қилиши, мицелий ва спораларининг ранги ҳамда ўлчамлари каби бир қатор кўрсаткичларга асосланади [19]. Турли *Trichoderma* турларида оқишдан то яшил ранггача бўлган ранглар кузатилади. Фойдаланилган озиқа муҳити, инокуляция техникаси ва инкубация шароитлари морфологик хусусиятларга таъсир қилиши мумкин [7, 18, 27]. Морфологик идентификация учун микроскопик кузатувларда конидиофораларнинг шохланиши ва конидиоспораларнинг шакли кабилар кўп қўлланилади. Бироқ турларнинг ўхшаш морфологияси ва ўхшаш культурал хусусиятларга эга бўлиши Триходерма турларини тўғри ва аниқ идентификацияси учун етар бўлмайди [29].

Trichoderma туркуми турларини идентификацияси, фақат