



UDK: 579.4:582.28:632.954

Soxibjon ABDUSAMATOV,
O'zMU, Biotexnologiya va mikrobiologiya kafedrasida dotsenti
E-mail: sokhibjon.abdusamatov@gmail.com

PhD S.Mahkamov taqrizi asosida

KASALLANGAN O'SIMLIKLARDAN AJRATILGAN MITSELIAL ZAMBURUG'LARNING MORFOBIOLOGIK TAVSIFI VA BEGONA O'TLARGA NISBATAN BIOGERBITSID TA'SIRI

Аннотация

Mazkur tadqiqotda fitotoksik metabolitlar manbai bo'lishi mumkin bo'lgan mitselial zamburug'larni aniqlash va ularning begona o't urug'lariga nisbatan biogerbitsid faolligini baholash maqsad qilindi. Namunalarning sifatida zamburug'li kasalliklar bilan zararlangan o'simlik organlari hamda ularning rizosfera tuproqlari olindi. Standart mikrobiologik usullar asosida endofit, epifit va rizosfera zamburug'lari ajratilib, jami 16 ta izolyat qo'lga kiritildi.

Ajratilgan izolyatlarning kultural suyuqliklari *Amaranthus retroflexus* va *Chenopodium album* urug'lariga nisbatan sinovdan o'tkazildi. Natijalar izolyatlar o'rtasida fitotoksik faollik darajasi sezilarli farqlanishini ko'rsatdi. Eng yuqori ingibirlanish 7-izolyatda (mos ravishda 81,0 % va 79,0 %), shuningdek 5- va 10-izolyatlarda kuzatildi.

Olingan natijalar ayrim mitselial zamburug' izolyatlari begona o'tlarga qarshi samarali biogerbitsid sifatida qo'llanishi mumkinligini ko'rsatadi hamda ularning selektivligi va xavfsizligini qo'shimcha o'rganish zarurligini ta'kidlaydi.

Kalit so'zlar: mitselial zamburug'lar, fitotoksik metabolitlar, biogerbitsid, rizosfera, urug' unuvchanligi.

МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОРАЖЁННЫХ РАСТЕНИЙ, И ИХ БИОГЕРБИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ В ОТНОШЕНИИ СОРНЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация

Целью данного исследования было выявление мицелиальных грибов, способных продуцировать фитотоксические метаболиты, и оценка их биогербицидной активности в отношении семян сорных растений. В качестве образцов использовали органы растений, поражённые грибными заболеваниями, а также почву их rizosферы. Стандартными микробиологическими методами были выделены эндофитные, эпифитные и rizosферные грибы, всего получено 16 изолятов. Культуральные фильтраты выделенных штаммов были испытаны на семенах *Amaranthus retroflexus* и *Chenopodium album*. Результаты показали значительные различия в уровне фитотоксической активности между изолятами. Наибольшее ингибирующее действие отмечено у изолята 7 (81,0% и 79,0% соответственно), а также у изолятов 5 и 10. Полученные данные свидетельствуют о перспективности отдельных мицелиальных грибов в качестве биогербицидов, однако требуется дополнительное изучение их селективности и безопасности.

Ключевые слова: мицелиальные грибы, фитотоксические метаболиты, биогербицид, rizosфера, прорастание семян.

MORPHOBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MYCELIAL FUNGI ISOLATED FROM INFECTED PLANTS AND THEIR BIOHERBICIDAL ACTIVITY AGAINST WEEDS

Annotation

This study aimed to identify filamentous fungi that may serve as sources of phytotoxic metabolites and to evaluate their bioherbicidal activity against weed seeds. Samples were collected from plant organs infected with fungal diseases as well as from their rizosphere soils. Using standard microbiological methods, endophytic, epiphytic, and rizospheric fungi were isolated, and a total of 16 isolates were obtained. The cultural filtrates of the isolated strains were tested against seeds of *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album*. The results demonstrated significant variation in phytotoxic activity among the isolates. The highest inhibition was observed in isolate 7 (81.0% and 79.0%, respectively), as well as in isolates 5 and 10.

The findings indicate that certain filamentous fungal isolates have potential as effective bioherbicides against weeds; however, further studies are required to assess their selectivity and safety.

Keywords: filamentous fungi, phytotoxic metabolites, bioherbicide, rizosphere, seed germination.

Kirish. Aholi sonining ortishi va qishloq xo'jaligiga ajratilgan yer maydonlarining qisqarishi oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlashni dolzarb masalaga aylantirmoqda. Begona o'tlar qishloq xo'jaligi ekinlari bilan oziq moddalar, suv va yorug'lik uchun raqobatlashib, hosildorlikni 30% dan ortiq kamaytirishi mumkin. Ularni boshqarishda agronomik, mexanik, biologik va kimyoviy usullar qo'llanilsa-da, ayniqsa kimyoviy gerbitsidlarning uzoq muddatli va keng miqyosda qo'llanilishi atrof-muhit va inson salomatligiga salbiy ta'sir ko'rsatmoqda hamda gerbitsidlarga chidamli (rezistent) begona o't shakllarining paydo bo'lishiga olib kelmoqda.

So'nggi yillarda glyfosat, 2,4-D va boshqa gerbitsidlarga nisbatan chidamlilikning ortib borishi ularning samaradorligini pasaytirib, barqaror boshqaruv strategiyalarini ishlab chiqishni talab etmoqda. Shu bois ekologik xavfsiz va selektiv ta'sirga ega biologik nazorat usullari, xususan mikroorganizmlar va ularning ikkilamchi metabolitlari asosida yaratilgan biogerbitsidlar

istiqbolli muqobil yo'nalish sifatida qaralmoqda. Biogerbitsidlar begona o'tlarni maqsadli bostirish xususiyati bilan ajralib turib, sintetik gerbitsidlarining salbiy oqibatlarini kamaytirishga xizmat qiladi.

Adabiyotlar sharhi. Oxirgi o'n yillik bibliografik tahlillar bioherbitsid sifatida qo'llanishi mumkin bo'lgan zamburug'lar xilma-xilligi sezilarli darajada ortganini ko'rsatadi. Xususan, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Drechslera*, *Phoma*, *Phyllostictica*, *Pyrenophora*, *Septoria* va *Stagonospora* jinslariga mansub zamburug'lar *Chenopodium album* L., *Cirsium arvense* L. va boshqa begona o't turlariga qarshi biokontrol vositasi sifatida qo'llanilmoqda. 1973-yilda Kanadada zamburug' asosidagi gerbitsidlar ilk bor rasmiy ravishda bozorga chiqarilgan. *Alternaria* jinsiga mansub *Alternaria cassia* va *Alternaria sonchi* turlari alohida ahamiyatga ega bo'lib, *Alternaria sonchi* ning *Sonchus arvensis* ga qarshi bioherbitsid metabolit ishlab chiqarishi aniqlangan [1].

Shuningdek, *Phoma dimorpha* va *Phoma macrostoma* kabi turlar bioherbitsid sifatida yuqori potentsialga ega. *Trichoderma* jinsi ham istiqbolli yo'nalish bo'lib, uning vakillari nafaqat tirik kultura, balki hujayrasiz metabolitlari orqali ham samarali ta'sir ko'rsatadi. Masalan, linoleik kislota etil efiri *Echinochloa colona* o'sishini bostiradi, *Trichoderma* fermentlari esa ayrim o'simliklarda fiziologik ta'sir namoyon etadi. *Phomopsis amaranthicola* *Amaranthus* turlariga qarshi samarali bo'lib, ildiz va poya to'qimalarini zararlaydi [2].

Dactylaria higginsii esa *Cyperus rotundus* ga qarshi ta'sir ko'rsatib, barglarda nekrotik dog'lar hosil qiladi. Shuningdek, *Phoma herbarum* tishkovulga qarshi samarali ekani qayd etilgan [3].

Phoma macrostoma ikki urug'pallali o'simliklar o'sishini bostirish xususiyatiga ega bo'lsa, *Phoma chenopodicola* *Chenopodium album* begona o'tini nazorat qilishda qo'llaniladi. *Sclerotinia* jinsiga mansub *Sclerotinia minor* va *S. sclerotiorum* turlari ham begona o'tlarni biokontrol qilishda istiqbolli hisoblanadi. Xususan, *S. minor* issiqxona sharoitida tishkovulga qarshi samarali biogerbitsid sifatida qayd etilgan. Har ikkala tur *Cirsium arvense* (tikanak) ni bostirishda qo'llaniladi [4]. Ushbu zamburug'larning asosiy fitotoksik metaboliti oksalat kislota bo'lib, u o'simliklarda polifenol oksidaza (PPO) fermentini ingibir qilib, himoya mexanizmlarini susaytiradi.

Tadqiqot metodologiyasi. Mitselial zamburug'lar ajratib olish. Tadqiqot davomida o'simliklarning ildiz, poya va rizosfera qismlaridan namunalar yig'ib olindi. Namuna sifatida 1–2 oylik, so'lish yoki sust o'sish belgilarini namoyon qilgan o'simliklar tanlab olindi.

Namuna olish tasodifiy tanlash usulida amalga oshirildi. Har bir tajriba maydonida zig-zag yo'nalishida harakatlanib, 10 tadan namuna yig'ildi. Ushbu yondashuv namunalar xilma-xilligini ta'minlash va natijalar ishonchligini oshirishga xizmat qildi.

Yig'ilgan namunalar steril plastik paketlarga joylashtirilib, tashqi muhit ta'siridan himoyalandi hamda laboratoriyaga yetkazildi. Namuna yig'ish ishlari 2024-yil aprel–may oylarida turli tajriba maydonlarida olib borildi. Laboratoriyada olingan materiallar asosida mikrobiologik tahlillar amalga oshirildi.

Tadqiqotda biogerbitsid faollikka ega bo'lishi mumkin bo'lgan zamburug'larni ajratib olish maqsadida kasallangan o'simliklarning ildiz, poya va barg qismlaridan, shuningdek rizosfera tuprog'idan namunalar olindi.

Endofit zamburug'larni ajratish uchun o'simlik to'qimalari dastlab steril suv bilan yuvilib, yuzaki iflosliklardan tozalandi va steril filtr qog'ozida quritildi. To'qimalar steril skalpel yordamida 2–3 mm hajmda kesilib, yuzaki sterilizatsiya qilindi: 75% etanol eritmasida 1 daqiqa, so'ng 1,3 mol/L natriy gipoxlorit (3–5% faol xlor) eritmasida 30 soniya davomida ushlab turildi. Har bosqichdan so'ng namunalar uch marta steril distillangan suv bilan chayildi [5]. Sterilizatsiyadan so'ng to'qima bo'laklari kartoshka dekstroza agari (KDA) muhitiga joylashtirilib, 25–28°C haroratda 5–7 kun inkubatsiya qilindi.

Epifit zamburug'larni ajratishda chayqatish va to'g'ridan-to'g'ri ekish usullari qo'llanildi. Chayqatish usulida o'simlik namunasi steril 10 mM MgSO₄ eritmasiga solinib, 150 ayl/min tezlikda 5–10 daqiqa chayqatildi. Olingan suspenziyadan ketma-ket suyultirishlar tayyorlanib, KDA muhitiga ekildi va 25–28°C da 3–7 kun inkubatsiya qilindi [6]. To'g'ridan-to'g'ri ekish usulida esa o'simlik organlari steril fiziologik eritma bilan yuvilib, 0,1 g/L streptomitsin qo'shilgan KDA muhitiga joylashtirildi va 25–28°C da 5–7 kun davomida inkubatsiya qilindi.

Rizosfera zamburug'larini ajratish uchun ildizga yaqin tuproq namunasi aseptik sharoitda olindi. 1 g tuproq 9 mL steril fiziologik eritmaga (0,85% NaCl) solinib, 150 rpm tezlikda 10–15 daqiqa chayqatildi. Olingan suspenziyadan 10⁻²–10⁻⁶ gacha suyultirishlar tayyorlanib, KDA muhitiga ekildi va 25–28°C da 5–7 kun inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya davomida hosil bo'lgan koloniyalar morfologik belgilariga ko'ra ajratilib, sof kulturaga o'tkazildi. Bakterial kontaminatsiyani minimallashtirish maqsadida ozuqa muhitiga 0,1 g/L streptomitsin qo'shildi. Barcha ishlar aseptik sharoitda amalga oshirildi [7].

Ajratilgan zamburug'larni morfologik idenfikatsiya qilish. Ajratilgan mitselial zamburug'larning morfologik tavsiflari ularni idenfikatsiya qilishda asosiy mezon sifatida baholandi. Izolyatlar kartoshka dekstroza agari (KDA) muhitiga ekilib, 25–28°C da 5–7 kun inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya davomida koloniyalarning o'sish diametri, rangi, yuzasi, chetlari va tuzilishi kuzatildi. Shuningdek, sporalar rangi, shakli va pigment hosil qilish xususiyatlari qayd etildi.

Mikroskopik tahlil ezilgan tomchi (wet mount) usulida LEICA ICC50 W mikroskopi yordamida amalga oshirildi. Sporalar shakli, kattaligi, joylashishi, mitseliyning septali yoki septasizligi hamda konidioforlar tuzilishi baholandi. Olingan natijalar Barnett va Hunter (1972) katalogi bilan taqqoslanib, dastlabki idenfikatsiya bajarildi. Natijalar fotosuratlar orqali hujjatlashtirildi [8].

Ajratilgan zamburug'larning biogerbitsid faolligini aniqlash. Tadqiqotning avvalgi bosqichida turli o'simliklardan ajratilgan fitopatogen mitselial zamburug'lar suyuq ozuqa muhitida yetishtirilib, ularning bioaktiv ikkilamchi metabolitlar ishlab chiqarish qobiliyati baholandi. Sof kulturallar kartoshka-dekstroza agari (KDA) muhitida 25 °C da 21 kun inkubatsiya qilindi. Yetilgan koloniyalar 5 ml steril suv bilan yuvilib, olingan mitseliyal suspenziya 125 ml KDB (kartoshka-dekstroza bulyoni) saqlangan 250 ml Erlenmeyer kolbalariga inokulyatsiya qilindi. Fermentatsiya 25 °C da, 120 ayl/min tezlikda 21 kun davomida amalga oshirildi.

Fermentatsiyadan so'ng kultura suyuqligi 4000 ayl/min da 10 daqiqa sentrifugalaniib, supernatant 0,22 mkm filtdan o'tkazildi. Olingan filtrat tarkibida potentsial fitotoksik va biogerbitsid metabolitlar mavjudligi taxmin qilindi.

Biogerbitsid faolligni baholash uchun *Amaranthus retroflexus* va *Chenopodium album* urug'lari ishlatildi. Urug'lar 1% natriy gipoxloritda 2–3 daqiqa dezinfeksiya qilinib, steril suv bilan yuvildi. Har bir Petri idishiga 10–15 ta urug' joylashtirilib, 2 ml kultural suyuqlik qo'shildi; nazorat sifatida steril suv ishlatildi. Idishlar 25 °C da 5–7 kun saqlanib, urug' unuvchanligi, o'sish uzunligi va vizual fitotoksik belgilar (xloroz, nekroz, deformatsiya) baholandi [9].

Tadqiqot natijalari va tahlili. Tadqiqot davomida fitotoksik metabolitlar manbai bo'lishi mumkin bo'lgan zamburug'larni ajratish maqsadida turli zamburug'li kasalliklar bilan zararlangan o'simlik organlari hamda ularning rizosfera tuproqlari namunalari sifatida olindi. Standart mikrobiologik usullar asosida endofit, epifit va rizosfera zamburug'lari ajratib olindi (1-rasm).

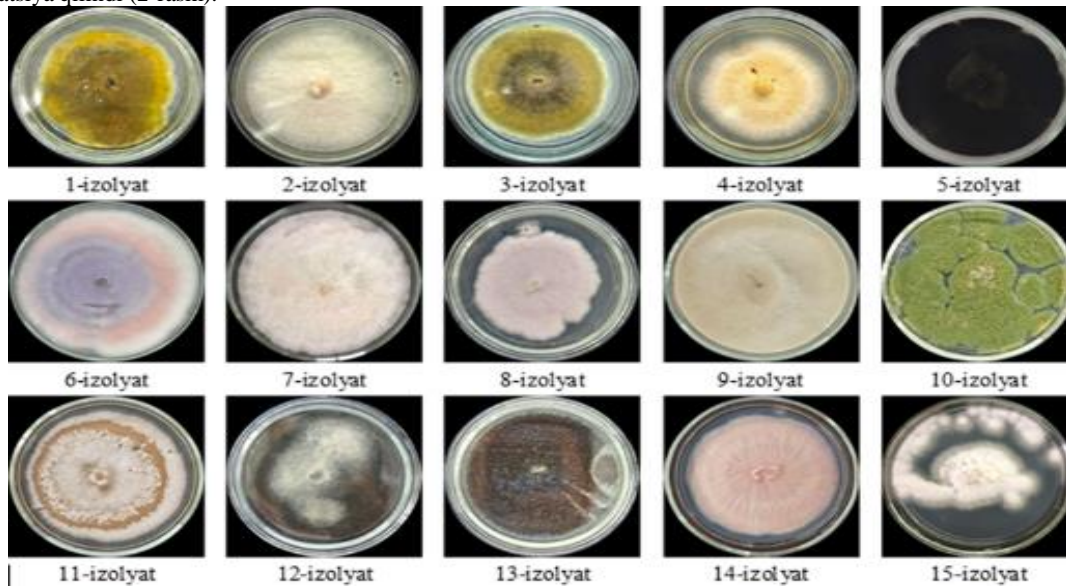


1-rasm. Kasallangan o'simliklardan ajratib olingan patogen zamburug'lar

Natijada turli madaniy va begona o'simliklar hamda tuproq namunalari jami 16 ta mitselial zamburug' izolyati ajratildi (9-rasm). Izolyatlar koloniyalarining morfologik belgilari, o'sish sur'ati va pigment hosil qilish xususiyatlariga ko'ra dastlabki guruhlariga ajratildi. Ularning asosiy qismi fitopatogen xususiyatga ega ekanligi aniqlandi.

Ajratilgan izolyatlarining 4 tasi o'simlik to'qimalaridan (endofit), 6 tasi o'simlik yuzasidan (epifit) va 6 tasi rizosfera tuprog'idan ajratib olindi.

Ajratilgan izolyatlar KDA muhitida yetishtirilib, koloniyalarining makro- va mikromorfologik belgilari asosida dastlabki identifikatsiya qilindi (2-rasm).



2-rasm. Ajratib olingan fitopatogen zamburug'larning toza kulturalari

1-, 3-5-12-13-izolyatlar kulrangdan to'q rangga o'tuvchi, radial tuzilgan koloniyalari hamda ko'p kamerali, zanjirsimon konidialari bilan *Alternaria spp.* sifatida baholandi.

6-, 10-izolyatlar tez o'suvchi, yashil-sarg'ish pigmentli, vezikulali konidioforlarga ega bo'lib, *Aspergillus* avlodiga mansub deb taxmin qilindi.

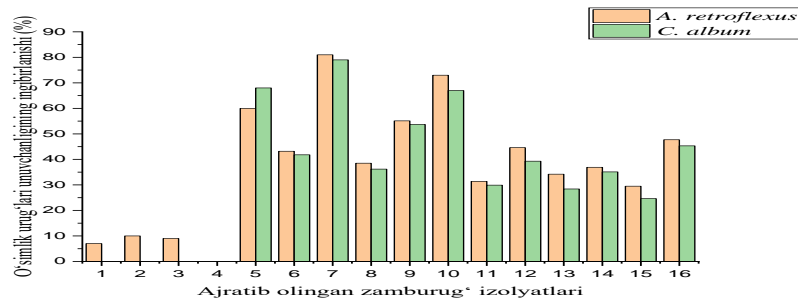
2-, 4-, 6-, 7-, 8-, 11-, 14- va 15-izolyatlar paxtasimon mitseliy, pushtimtir pigmentatsiya hamda yoysimon makrokonidialari bilan *Fusarium spp.* ga xos belgilarga ega ekanligi aniqlandi.

9-izolyat esa kulrang-jigar rangli koloniyasi bilan *Botrytis* avlodiga yaqin deb baholandi.

Tadqiqotda O'zbekistonning turli agroekologik hududlaridan ajratilgan 16 ta mitselial zamburug' izolyatlarining kultural suyuqliklari *Amaranthus retroflexus* va *Chenopodium album* urug'lariga nisbatan fitotoksik ta'siri baholandi. Har bir izolyat 10 tadan urug'ga 3 takroriylikda qo'llanildi, nazorat sifatida steril distillangan suv ishlatildi.

Natijalar izolyatlar orasida biogerbitsid faollik darajasi turlicha ekanligini ko'rsatdi. Ayrim kultural suyuqliklar urug' unuvchanligini keskin kamaytirgan bo'lsa, boshqalari sezilarli ta'sir ko'rsatmadi.

Eng yuqori fitotoksik faollik 5-, 7- va 10-izolyatlarda kuzatildi. Ular mos ravishda *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* va *Aspergillus sp.* ga mansub bo'lib, ularning ikkilamchi metabolitlari begona o't urug'larining unuvchanligini sezilarli darajada pasaytirdi.



3-rasm. Mitselial zamburug' izolyatlarining urug' unuvchanligini ingibirlashi (Qaytariqlar soni=3, $p \leq 0.05$)

Tadqiqotning davomida olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, ba'zi mitselial zamburug' izolyatlari, xususan 5, 7, 9 va 10-raqamli izolyatlar, o'ta yuqori darajada fitotoksik (biogerbitsid) ta'sir ko'rsatdi. Bu izolyatlar begona o't urug'larining unuvchanligini keskin darajada kamaytirish bilan birga, madaniy ekinlar ko'chatlarida ham jiddiy fiziologik va morfologik o'zgarishlarni keltirib chiqardi. Misol uchun, bodring ko'chatlarida o'sishning pasayishi, barglarning xloroz va nekroz holatiga tushishi kabi holatlar kuzatildi.

Xulosa. Bundan tashqari, tadqiqot natijalari zamburug'lardan ajralib chiqqan ikkilamchi metabolitlar tarkibi va ularning fitotoksik ta'sirini yanada chuqurroq o'rganishni talab qiladi. Bu o'ziga xos biologik faol moddalar va ularning mexanizmlarini aniqlash orqali, kelajakda ushbu metabolitlarning ta'sirini yaxshiroq tushunish va ularni biogerbitsid sifatida amaliyotga joriy etish imkoniyatlarini ko'rish mumkin bo'ladi. Shunday qilib, ushbu zamburug' izolyatlari biologik gerbitsid preparatlar yaratishda istiqbolli biosharoit manbasi bo'lib xizmat qilishi mumkin. Tadqiqot natijalari shuni ko'rsatdiki, 7-izolyat o'zining yuqori selektivligi va kuchli fitotoksik ta'siri bilan ajralib turadi. Ushbu izolyatning samarali ta'siri, uni keyingi bosqichdagi tajribalarda model shtamm sifatida tanlashga asos beradi. 7-izolyatning yuqori faolligi, uning o'ziga xos biogeaktiv metabolitlar ishlab chiqarish qobiliyati bilan bog'liq bo'lib, bu uni o'zgaruvchan agroekologik sharoitlarda begona o'tlarga qarshi samarali biologik preparat sifatida joriy qilish imkoniyatini ochadi.

Natijada, ushbu izolyat kelajakda yangi, atrof-muhitga xavfsiz va samarali biogerbitsidlarni ishlab chiqish jarayonida muhim rol o'ynashi kutilmoqda.

ADABIYOTLAR

1. Tardieu, F. (2013). Plant response to environmental conditions: Assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. *Frontiers in Physiology*, 4, 17.
2. Abraham, E., John, J., & Pillai, P. S. (2016). Allelopathic effect of leaf loppings of homestead trees on ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Tropical Agriculture*, 54, 60.
3. Najafpour, M. M. (2011). Oxygen evolving complex in photosystem II: Better than excellent. *Dalton Transactions*, 40, 9076–9084.
4. Lee, S. M., Radhakrishnan, R., Kang, S. M., Kim, J. H., Lee, I. Y., Moon, B. Y., Yoon, B. W., & Lee, I. J. (2015). Phytotoxic mechanisms of bur cucumber seed extracts on lettuce with special reference to analysis of chloroplast proteins, phytohormones, and nutritional elements. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 230–237.
5. Kjer, J., Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature protocols*, 5(3), 479–490.
6. Fiss, M., Kucheryava, N., Schönherr, J., Kollar, A., Arnold, G., & Auling, G. (2000). Isolation and characterization of epiphytic fungi from the phyllosphere of apple as potential biocontrol agents against apple scab (*Venturia inaequalis*). Isolierung und Charakterisierung von epiphytischen Pilzen aus der Phyllosphäre von Äpfeln zur biologischen Bekämpfung des Apfelschorferregers *Venturia inaequalis*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 1–11.
7. Parkinson, D., & Thomas, A. (1965). A comparison of methods for the isolation of fungi from rhizospheres. *Canadian journal of Microbiology*, 11(6), 1001–1007.
8. Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi.
9. Souza, A. R. C. D., Baldoni, D. B., Lima, J., Porto, V., Marcuz, C., Machado, C., ... & Mazutti, M. A. (2017). Selection, isolation, and identification of fungi for bioherbicide production. *Brazilian journal of microbiology*, 48, 101–108.