

**O‘O‘K: 579.23.24+579.663**

## **BACILLUS SUBTILIS T2011 SHTAMMINING FITOPATOGEN ZAMBURUG‘LARGA QARSHI ANTAGONISTIK FAOLLIGI**

**M.A. Pattayeva, D. Rayimberdiyev, B.A. Rasulov**

O‘zR FA Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi instituti

### **ANNOTATSIYA**

Ushbu maqolada *Bacillus subtilis* T2011 shtammining morfolo-gi-fiziologiyasi, *Fusarium oxysporum* va *Verticillium dahliae* fitopatogen zamburug‘larga qarshi antagonistik faolligi o‘rganilgan. Tajribada *Bacillus* turkumining bir nechta izolyatlari *Fusarium oxysporum* va *Verticillium dahliae*ning faolligini samarali ravishda cheklashi aniqlandi. *Bacillus* sp.T2011 izolyati *Fusarium oxysporum* zamburug‘ini 14,6 mm, *Verticillium dahliae*ning esa 8,5 mm qismida zamburug‘ni faoliyatini cheklaganini aniqlandi. Shuningdek tadqiqotlar davomida eng faol deb topilgan *Bacillus* sp.T2011 izolyati filogenetik tahlil qilinib, uni *Bacillus subtilis* turiga mansubligi aniqlandi.

**Kalit so‘zlar:** bakteriya, zamburug‘, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, fitopatogen, antagonist.

## **АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММА BACILLUS SUBTILIS T2011 В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ**

**М.А. Паттаева, Д. Райимбердиев, Б.А. Расулов**

### **АННОТАЦИЯ**

В статье изучены морфология и физиология штамма *Bacillus subtilis* T2011, антагонистическая активность в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum* и *Verticillium dahliae*. В эксперименте было обнаружено, что несколько изолятов рода *Bacillus* эффективно ограничивают активность *Fusarium oxysporum* и *Verticillium dahliae*. Установлено, что изолят *Bacillus* sp.T2011 ингибирует грибы рода *Fusarium oxysporum* на 14,6 мм и *Verticillium dahliae* на 8,5 мм. Также филогенетический анализ изолята *Bacillus* sp.2011 на основе последовательности гена 16S рРНК показал, что он принадлежит к виду *Bacillus subtilis*.

**Ключевые слова:** бактерии, грибы, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, фитопатоген, антагонист.

## ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *BACILLUS SUBTILIS* T2011 STRAIN AGAINST PHYTOPATHOGENIC FUNGI

**M.A. Pattaeva, D. Rayimberdiev, B.A. Rasulov**

### ABSTRACT

Morphology and physiology of *Bacillus subtilis* T2011 strain, antagonistic activity against phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* were studied in this article. In the experiment, several isolates of the genus *Bacillus* were found to effectively limit the activity of *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae*. It was found that *Bacillus* sp. T2011 isolate inhibited *Fusarium oxysporum* fungus by 14.6 mm and *Verticillium dahliae* by 8.5 mm. Also, the phylogenetic analysis of the *Bacillus* sp.2011 isolate based on the 16 S rRNA gene sequence revealed that it belongs to the *Bacillus subtilis* speciesю

**Keywords:** bacteria, fungi, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, phytopathogen, antagonist.

### KIRISH

Tuproq unumdorligining pasayishi va sho'rlanishining kuchayishi, namlik tanqisligi, shuningdek, madaniy o'simliklarning kasallik va zararkunandalarining nazoratsiz o'sib borishi O'zbekistonda qishloq xo'jaligining barqaror rivojlanishini qiyinlashtirmoqda. Bu muammolarni hal etish uchun qishloq xo'jaligi sohasida ham atrof muhitning noqulay omillariga, ham epifitotik kasalliklar qo'zg'atuvchilariga chidamli, serhosil, ertapishar, sifatli navlarini yaratish dolzarb hisoblanadi.

G'o'zaning *Fusarium* va vilt (*Fusarium oxysporum* va *Verticillium dahliae*), sariq zang (*Puccinia striiformis*), bug'doyning bargi dog'i (*Bipolaris sorokiniana* va *Pyrenophora tritici-repentis*) kabi kasalliklarning rivojlanishi, boshoqli ekinlarni urug'larini *Cladosporium*, *Fusarium* zamburug'lari bilan zararlanishi hosil miqdorining sezilarli darajada pasayishiga va uning sifat ko'rsatkichlarining yomonlashishiga olib keladi.

Hozirgi vaqtda kasalliklar va zararkunandalarga qarshi kimyoviy o'simliklarni himoya qilish vositalaridan foydalanishning salbiy tomonlariga tobora ko'proq e'tibor qaratilmoqda (1). Agrokimyoviy moddalarga muqobil patogenlarni nazorat qilishning agrotexnik va biologik usullari, shu jumladan o'simliklarning kasalliklarga chidamliligini oshiradigan va fitopatogenlarga antagonistik xususiyatlarini

ko'rsatadigan mikroorganizmlarga asoslangan mikrobial preparatlar talab ortib bormoqda. Mikroblil preparatlardan foydalanish juda keng tarqalgan usul bo'lib, o'simliklarning butun vegetatsiya davrida, shuningdek urug'lik va qishloq xo'jaligi mahsulotlarini saqlash paytida kasalliklarning rivojlanishini nazorat qilishi mumkin (1).

Fitopatogenlarni bionazorat qilish uchun preparatlar ishlab chiqarishda turli xil turdagi antagonist mikroorganizmlar qo'llaniladi. Azotobacter, Pseudomonas (2) va Bacillus (3, 4) turkumlari vakillari asosida tayyorlangan biopreparatlar hozirgi qishloq ho'jaligi sohasidagi eng istiqbolli preparatlar safiga kiradi. Fusarium turkumi fitopatogenlarining populyatsiya zichligini tartibga solishning tabiiy mexanizmlarini o'rganish dolzarbdir, ularning samarali bionazorat qilishda fungitsidlik xususiyati yuqori bo'lgan Bacillus subtilis turidan foydalanish samarali natijalarga erishishni ta'minlaydi (1, 3).

### **MATERIALLAR VA TADQIQOT USULLARI**

Tadqiqot ishida bakteriya va zamburug'larni o'stirishda quyidagi ozuqa muhitlaridan foydalanildi: (g/l);

Bacillus turkumi bakteriyalarini o'stirish uchun go'sht-peptonli agar (Go'sht-fermentativ pepton 0.5, agar-agar 0.75, distillangan suv-1);

Fusarium, Verticillium turlariga mansub fitopatogen zamburug'larni o'stirish uchun Chapek ozuqa muhitidan ( $\text{NaNO}_3$ -3,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -1,  $\text{MgSO}_4$ -0.5, KCl-0.5, agar-agar – 15, suv-1) foydalanildi.

Bakteriya shtammlarining fungitsid faolligini aniqlash Petri idishlaridagi Verticillium dahliae va Fusarium oxysporum kulturalarida sinov zamburug'lari "maysazor" yuzasida bakterial kultura suspenziyasida oldindan namlangan steril filtr qog'oz disklarini qo'llash orqali amalga oshirildi. Fungitsid faollik darajasi disk atrofidagi zamburug' o'sishi yo'qligi zonasining kengligi bilan aniqlandi.

### **OLINGAN NATIJALAR**

Bakterial antagonistlardan foydalanish, asosan, rizosferada muhim rol o'ynaydigan foydali va zararli mikroorganizmlar o'rtasidagi munosabatlarni tartibga soluvchi mexanizmga asoslanadi. Ushbu usuldan foydalanish fitopatogenlar populyatsiyasini to'liq yo'q qilishga emas, balki uning rivojlanishini sezilarli darajada cheklash va zararliligini kamaytirishga qaratiladi.

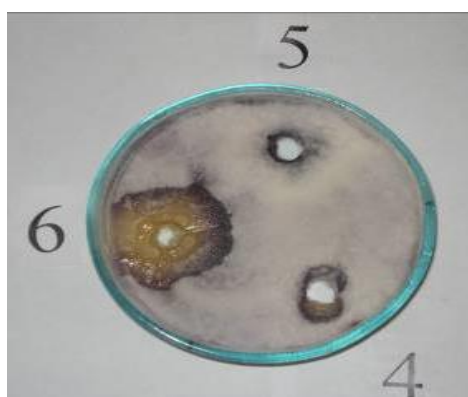
Laboratoriya sharoitida bakteriya kulturalarning fungitsid faolligini aniqlash uchun skrining o'tkazildi.

Fungitsid faolligini tekshirish uchun Bacillus sp.ning 10 izolyati va Fusarium oxysporum va Verticillium dahliae fitopatogen zamburug'lari sinov ob'ekti sifatida tanlandi. Ushbu mikroorganizm shtammlari g'o'za rizosferasidan ajratilgan. Tajribada Bacillus turkumi izolyatlari Fusarium oxysporum va Verticillium dahliae

faoligini samarali ravishda cheklashi aniqlandi. *Bacillus* sp. T2011 bakteriya izolyati (zamburug' o'smagan zona - 14,6 mm), *Bacillus* sp. RB-76 (11,0 mm), *Bacillus* sp. 4 (8,4 mm), 16 (7,3 mm), *Bacillus* sp. RB-55 (6,0 mm) *Fusarium* qo'zg'atuvchisiga nisbatan eng yuqori fungitsid faollikka, *Verticillium dahliaega* nisbatan *Bacillus* sp. T2011 bakterial izolyati (zamburug' o'smagan zona - 8,5 mm), *Bacillus* sp. RB-76 (5,0 mm), *Bacillus* sp. RB-55 (5,0 mm) va *Bacillus* sp.14 (4,5 mm) eng yuqori fungitsid faollikka egaligi kuzatildi (1-jadval).

**1-jadval. Bakteriya izolyatlarining fungitsid faolligi darajasi**

Bakteriya izolyatlari	Bakterial izolyatining zamburug' o'smagan zonasi, mm	
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Verticillium dahliae</i>
<i>Bacillus</i> sp. 4	8.4	2.5
<i>Bacillus</i> sp. 5	3.8	1.0
<i>Bacillus</i> sp. 14	1.5	4.5
<i>Bacillus</i> sp. 16	7.3	1.0
<i>Bacillus</i> sp. RB-55	6.0	5.0
<i>Bacillus</i> sp. RB76	11.0	5.0
<i>Bacillus</i> sp. 77	1.3	2.5
<i>Bacillus</i> sp. T2007	2.6	3.8
<i>Bacillus</i> sp. T2011	14.6	8.5
<i>Bacillus</i> sp. Buhoro	2.9	3.6



1

2

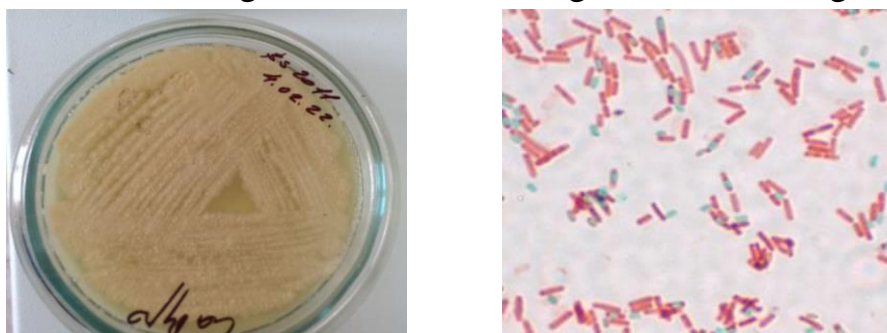
**1-rasm. Ayrim *Bacillus* izolyatlarining *Fusarium oxysporum* (1) va *Verticillium dahliae* (2) zamburug'lariga ta'siri (4 - *Bacillus* sp. Buxoro, 5 - *Bacillus* sp. 77, 6 - *Bacillus* sp. T2011)**

Shunday qilib, *Bacillus* turkumidan tekshirilgan bakteriya izolyatlar o'simlik fitopatogenlarining o'sishi va rivojlanishini ma'lum darajada cheklashi tajribalarda

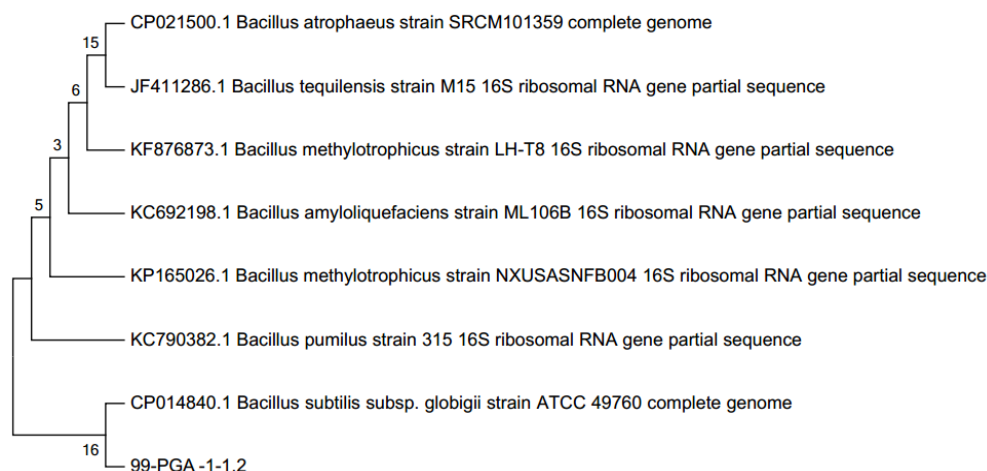
isbotlandi. *Bacillus* sp. T2011 bakteriya izolyati eng yuqori fungitsid faollikka egaligi sababli identifikatsiya qilinib keying tadqiqotlar ucun tanlab olindi. *B. subtilis* bakteriya shtammi gramm-musbat yirik tayoqchali, yumaloq uchlari bilan ( $1,0-1,3 \times 4,6-5,5$  mkm), qalinligi taxminan 0,7 ni tashkil qiladi (5). Ba'zan, ko'ndalang bo'linishdan keyin ular bir-biriga bog'langan holda qoladilar, yupqa iplar yoki 2 yoki undan ortiq hujayradan iborat zanjirlarni tashkil qiladi. . Harakat qilish qobiliyati flagellalar peritritrikdir. Noqulay ekologik sharoitlarda hujayra hajmidan oshmaydigan markaziy oval spora hosil qiladi.

*B. subtilis* koloniyasining morfologiyasi joylashishiga qarab juda katta farq qiladi. Yashash joyi, rangi oq, bir oz bej yoki pushti bo'lishi mumkin, ular notekis to'liqlik chetiga xosdir, ular quruq, mayda tirishli baxmal tuzilishga ega (6).

Tadqiqotning keyingi bosqichida antifungal xususiyatiga ko'ra eng faol deb topilgan *Bacillus* sp. T2011 izolyati suyuq va agarli ozuqa muhitlarida o'stirilib identifikatsiya qilindi. *Bacillus* sp.2011 izolyatining 16 S rRNK gen-sekvensi asosidagi filogenetik tahlili uning *Bacillus subtilis* turiga mansub ekanligi ko'rsatdi (3-rasm).



**2-rasm. *Bacillus subtilis* T2011 shtamining suyuq va agarli ozuqa muhitidagi ko'rinishi.**



**3-rasm. *Bacillus subtilis* T2011 shtamining 16S rRNK gen-sekvensi asosidagi filogenetik shajarasi**

Mikroorganizmlarga nisbatan antagonistik xususiyati bo'yicha *Bacillus subtilis* turiga mansub bakteriya shtammlari juda faol hisoblanadi.

*Bacillus subtilis* T2011 shtammi *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* kabi fitopatogen zamburug' shtammlariga nisbatan kuchli antagonistik xususiyatga ekanligi bizning tajribalarimizda ham isbotlandi.

#### FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI: (REFERENCES)

1. Моспалюк В.І., Мерленко І.М. Еколого-економічна ефективність застосування біопрепаратів // Міжнар. науково-практ. конф. «Актуальні проблеми сучасного землеробства» (м.Луганськ 14-16 травня 2003 р.): доп. і виступи. – Луганськ: Вид-во ЛНАУ, 2003. – С. 351-354.
2. Lugtenberg B.J.J. Mechanisms used by *Pseudomonas* biocontrol strains to control tomato foot and root rot /Lugtenberg B.J.J. //11-th International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions «New bridges between Past and Future» (St.-Petersburg, July 18-26, 2003): abstr. – St.-Petersburg, 2003. – P. 3.
3. Bacon Charles W., Hinton Dorothy M. Use of *Bacillus subtilis* as an endophyte for the control of diseases caused by fungi // USA Department of Agriculture. – № 08/58-664; заявл. 29.12.95; опубл. 30.1.99; НПК 435/252.5.
4. Маслак Д.В., Власик Н.В., Максимова Н.П. Выделение антимикробных метаболитов бактерий *Bacillus subtilis* КМБУ 30043 // Матер. междунар. конф. «Микробиология и биотехнология 21 столетия» (Минск, 22-24 мая 2002 г.). – Минск, 2002. – С. 51-52.
5. Садунова А.В. Общая характеристика бактерий рода *Bacillus*. – В.: Дальневосточный федеральный университет, 2014. – 66 с.
6. Красникова Л.В., Гунькова П.И. Общая и пищевая микробиология: Часть I. – СПб: Университет ИТМО, – 2016. – 135 с.