

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019. В.38.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ГЕНЕТИКА ВА ЎСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ**

РУЗМЕТОВ ДИЛШОД РУСТАМ ЎҒЛИ

**ДУККАКЛИ ЭКИНЛАРИНИНГ МИКОБИОТАСИ, ФИТОПАТОГЕН
ТУРЛАРИНИНГ ИДЕНТИФИКАЦИЯСИ ВА УЛАРНИНГ
КУЛЬТУРАЛАРИНИ КОЛЛЕКЦИЯДА САҚЛАШНИ ОПТИМИЗАЦИЯ
ҚИЛИШ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2023

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Рузметов Дилшод Рустам ўғли

Дуккакли экинларининг микобиотаси, фитопатоген турларининг идентификацияси ва уларнинг культураларини коллекцияда сақлашни оптимизация қилиш 3

Рузметов Дилшод Рустам угли

Микобиота бобовых культур, видовая идентификация фитопатогенных грибов и оптимизация условий их хранения в коллекции 21

Ruzmetov Dilshod Rustam ugli

Mycobiota of leguminous crops, species identification of phytopathogenic fungi and optimization of their storage conditions in the collection 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works 43

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019. В.38.01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**
**ГЕНЕТИКА ВА ҲСИМЛИКЛАР ЭКСПЕРИМЕНТАЛ БИОЛОГИЯСИ
ИНСТИТУТИ**

РУЗМЕТОВ ДИЛШОД РУСТАМ ҲҒЛИ

**ДУККАКЛИ ЭКИНЛАРИНИНГ МИКОБИОТАСИ, ФИТОПАТОГЕН
ТУРЛАРИНИНГ ИДЕНТИФИКАЦИЯСИ ВА УЛАРНИНГ
КУЛЬТУРАЛАРИНИ КОЛЛЕКЦИЯДА САҚЛАШНИ ОПТИМИЗАЦИЯ
ҚИЛИШ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БҲЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2023

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2022.4.PhD/B802, рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация диссертацияси Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (info-microbio@academy.uz) ҳамда «ZiyoNet» ахборот-таълим портали (www.ziyounet.uz) манзилларига жойлаштирилган.


Илмий раҳбар:	Шеримбетов Анвар Гулмирзаевич биология фанлари фалсафа доктори, катта илмий ходим
Расмий оппонентлар:	Ҳасанов Ботир Ачилович биология фанлари доктори, профессор Кадирова Гульчехра Хакимовна биология фанлари доктори, катта илмий ходим
Етакчи ташкилот:	Ўзбекистон Миллий Университети


Диссертация химояси Микробиология институти DSc.02/30.12.2019.B.38.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2023 йил «18» июл соат 10:00 даги мажлисида бўлади (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти конференция залида). Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz.


Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин. () рақамли билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100128, Тошкент шаҳар, Шайхонтохур тумани, А.Қодирий кўчаси, 7Б уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 5-қават, кутубхона). Тел.: (+99871)241-92-28.

Диссертация автореферати 2023 йил « 4 » 07 да тарқатилди.
(2023 йил « 4 » 07 № 4 рақамли реестр баённомаси)




Арипов Тахир Фатихович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси,
б.ф.д., профессор, академик


Жураева Рохила Назаровна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.н., катта илмий ходим


Гулямова Тошхон Гофуровна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда дуккакли экинлар донли экинлардан кейинги ўринда туради ҳамда муҳим озиқ-овқат манбаи сифатида 93,54 миллион гектарга яқин экин майдонларида етиштирилади, ҳосилдорлиги эса 90 миллион тоннани ташкил этади. Таъкидлаш жоизки, дуккакли экинлар юқори озуқавий қийматга эга бўлиб кўп миқдордаги оксилларни ўз ичига олади ҳамда барча муҳим аминокислоталар, углеводлар, клетчаткалар, минераллар ва витаминларга бой ҳисобланади. Маълумки, замбуруғ касалликлари энг зарарли биотик омиллардан бири бўлиб дуккакли экинларнинг ҳосилдорлиги кескин пасайиши ҳисобига ҳосилдорлиги 15% дан 80% гача камайишига олиб келиши мумкин. Шунингдек, дуккакли экинларда касалликлар келтириб чиқарувчи 200 дан ортиқ фитопатоген замбуруғлар мавжуд. Улардан *Fusarium*, *Alternaria* ва *Ascochyta* дунёнинг барча минтақаларида энг кўп тарқалган ва кучли касаллик қўзғатувчилари ҳисобланади. Шу сабабли, дуккакли экинларнинг замбуруғ касалликларини аниқлаш, фитосанитар мониторингини ўтказиш, фитопатоген замбуруғларнинг тур таркибини ўз вақтида аниқлаш муҳим аҳамиятга эга.

Жаҳонда дуккакли экинларда учрайдиган замбуруғ касалликларининг тарқалиши ва зарари, уларни эрта диагноз қилиш ҳамда фитопатоген замбуруғларнинг генотипик хилма-хиллигини аниқлаш борасида тизимли илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу борада, дуккакли экинларда касаллик қўзғатувчи турларнинг тарқалиши ва уларнинг таснифи, касаллик ривожланишининг дастлабки босқичларида барча ўсимликларда идентификация қилиш қийин бўлган фитопатоген замбуруғларни аниқлаш ҳамда энг самарали усулларини қўллаш, микологияда молекуляр-генетик таҳлилидан фойдаланиш, мавжуд таксономик тизимларни танқидий қайта кўриб чиқишда ҳамда генетика, экология, популяцион биологиясини ва зарарини таҳлил қилиш, фитопатоген замбуруғ культураларини коллекцияда сақлаш усулларини оптималлаштириш, шунингдек, дуккакли экинлардан ажратилган фитопатоген замбуруғларнинг тур таркибининг морфологик ва молекуляр генетик идентификацияси ҳамда ажратилган замбуруғларнинг филогениясини таҳлил қилиш бўйича олиб бориладиган тадқиқотлар муҳим илмий ва амалий аҳамиятга эга.

Республикамизда қишлоқ хўжалиги ўсимликларида учрайдиган фитопатоген замбуруғ касалликларини тарқалишини эрта диагностика қилиш ва уларга қарши курашиш борасида кенг чора-тадбирларни ишлаб чиқиш ва амалиётга жорий қилишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Ўзбекистон Республикасини қишлоқ хўжалигини янада ривожлантиришнинг 2020-2030 йилларга мўлжалланган Ҳаракатлар стратегиясида¹ «...касаллик ва зараркунандаларга чидамли, маҳаллий шароитларга мослашган экинларининг янги навларини яратиш ва жорий этиш ҳамда озиқ-овқат

¹Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 23 октябрдаги ПФ-5853-сонли «Ўзбекистон Республикасини қишлоқ хўжалигини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» Фармони.

маҳсулотлари хавфсизлигини таъминлаш» бўйича муҳим вазифалар белгилаб берилган. Мазкур вазифаларини амалга оширишда, жумладан, айрим ҳудудлардаги дуккакли экинларда учрайдиган фитопатоген замбуруғларининг тур таркибининг аниқлаш ва патогенлик хусусиятларини баҳолаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 23 октябрдаги ПФ-5853-сон «Ўзбекистон Республикаси қишлоқ хўжалигини ривожлантиришнинг 2020-2030 йилларга мўлжалланган стратегиясини тасдиқлаш тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ-60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2018 йил 10 февралдаги 105-сон «Республикада соя етиштириш хажмларини янада кўпайтириш чора – тадбирлари тўғрисида» ги қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V. «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Дуккакли ўсимликларда касаллик қўзғатувчи замбуруғларнинг тур таркиби, тарқалиши ва зарари ҳақида дунёнинг бир қатор олимлари (Biddle A.J., 2007; Курилова Д.А., 2010; Buruchara R et al., 2010; Ellis M.L., 2012; Seebold K.W., 2014; Burrows M., 2017; Markell S., 2021; Batzer J.C et al., 2022; Elmerich C., 2022; Lin F et al., 2022) томонидан илмий изланишлар олиб борилган. Фитопатоген замбуруғ турларининг морфологияси, таксономияси бўйича (Leslie J.F. Summerel B.A., 2006; Simmons., 2007; Acharya B et al., 2015; Henrique F.H et al., 2023; Berg N et al., 2023) илмий изланишлар ўтказилган.

Ҳозирги вақтда фитопатоген замбуруғлар турлари таркибини ўрганишда, шунингдек уларнинг таксономик бирликларини ўрганишда молекуляр-генетик усуллар муҳим роль ўйнайди, шу жумладан трансляция элонгация фактори 1 альфа (*tef1a*), бета-тубулин (β -tub) ва ITS региони каби локусларни ўрганишган, фитопатоген микромицетларни молекуляр идентификациялаш ва уларнинг филогениясини (Vitor Fernandes et al., 2010; Obanor F et al., 2010; Singha I.M et al., 2016; Rincon M et al., 2016; O'Donnell K. 2022) тадқиқ қилишган. Фитопатоген микромицетлар коллекцияларини кенг қамровли ўрганиш дунёнинг етакчи олимлари (Ф.Б. Ганнибал., 2004; Т.Ю. Гагкаева., 2005; О.П. Гаврилова., 2014) томонидан олиб борилган тадқиқотларга бағишланган.

Республикаemiz шароитида дуккакли ўсимликларда касаллик қўзғатувчи фитопатоген микромицетларининг туркумига мансуб замбуруғлар турларининг таркиби, систематикаси бўйича (Махмудходжаев Н.М.,

Сагдуллаев А.У., 2012; Рахманов Ж., 2018; Нахалбаев Ж. Т., 2021) олимларнинг илмий ишларида улар тупроқ ва ўсимликлардан ажратилган фитопатоген турлар билан тажрибалар ўтказишган, фитопатоген микромицетларни ПЗР диагностикаси ва молекуляр генетик идентификациясига (Мухамедов Р.С., 1996; Эгамбердиев Ш.Ш., 2016) оид илмий ишлар олиб борилган.

Аммо, юқоридаги олиб борилган тадқиқотларда дуккакли ўсимликларда касаллик кўзғатувчи фитопатоген микромицетлар турларининг морфологик ҳамда молекуляр-генетик идентификацияси бўйича тўлиқ маълумотлар мавжуд эмас. Шунингдек, фитопатоген замбуруғларни узоқ муддат сақлаш ва уларни оптималлаштиришга қаратилган илмий тадқиқотлар илгари республикада амалга оширилмаган. Шунинг учун дуккакли ўсимликларда касаллик кўзғатувчи фитопатоген микромицет турларининг идентификациясини ва уларни коллекцияда узоқ муддат сақлаш усулларини ўрганиш илмий-амалий аҳамият касб этади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-А-ҚХ -2018-223 «Донли озуқа экинлари (жавдар, тритикале) ва дуккакли дон экинлари (мош, ловия, нўхат ва бошқа)нинг маҳаллий ва жаҳон коллекцияси намуналаридан республика иқлим шароитига мос, турли стресс омилларга чидамли бўлган истиқболли навларини танлаш ва етиштириш агро ва биотехнологиясини такомиллаштириш» (2018-2020 йй), А-ФА-2021-7 «Дуккакли ва мойли экинлар маҳаллий навларини физиологик биокимёвий методлар орқали фитопатоген замбуруғларга чидамлилик механизмини яратиш» (2021-2023 йй) мавзуларидаги амалий лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади. Ўзбекистоннинг айрим ҳудудларида дуккакли экинлардан ажратилган фитопатоген замбуруғларнинг тур таркиби, морфологик, молекуляр генетик идентификацияси, филогениясини аниқлаш, патогенлик хусусиятларини баҳолаш ҳамда коллекциясини яратиш ва оптимизация қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

Дуккакли экинлар экилган республикамизнинг айрим ҳудудларини фитосанитар назоратдан ўтказиш ҳамда касалланган намуналарини йиғиш;

йиғилган намуна ва тупроқларининг микологик экспертизасини амалга ошириш, фитопатоген микромицетлар турларининг соф культураларини ажратиш;

ажратилган изолятларнинг макро ва микро- морфологик ва молекуляр генетик усуллар ёрдамида идентификация қилиш учун ДНК маркерлари (*tef-1α* ген фрагменти, ITS регион) ёрдамида баркодлашни амалга ошириш;

дуккакли экинларни касаллантирувчи фитопатоген микромицетларнинг генининг фрагменти *tef-1α* ва ITS региони ДНК нуклеотидлар кетма-

кетликларини биоинформатик дастурлари ёрдамида таҳлил қилиш ва молекуляр филогениясини ишлаб чиқиш;

культурал морфологик ва молекуляр генетик усуллар билан аниқланган турларнинг патогенлик хусусиятларини Хилл ва бошқа усули ёрдамида аниқлаш;

аниқланган штаммлар моноспора культураларининг коллекциясини яратиш ҳамда коллекцияда узоқ муддатда сақлашни оптимизация қилиш.

Тадқиқотнинг объектини республикамизнинг турли ҳудудларидаги далаларда экилган дуккакли экинлардан ажратилган *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* ва бошқа туркумига оид турларининг фитопатоген микромицетлар, тупроқдан ажратилган штаммлари олинган.

Тадқиқотнинг предметини дуккакли экинлар экилган далалар ва тупроқ намуналаридан фитопатоген микромицетларларнинг соф культуралари ва уларни молекуляр-генетик идентификация қилиб NCBI базасида штаммларнинг филогениясини таҳлил қилиш ва штаммларнинг патогенлик хусусиятларини скрининг қилиш ҳамда коллекциясини яратиш ва оптимизациялаш ташкил этган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотни бажариш жараёнида микробиологик, микологик экспертиза, фитопатологик ва микроскопик, молекуляр-генетик (геном ДНК ни ажратиш, гел-электрофорез, ПЗР, ДНК ни сиквенслаш), фенологик, умумий фитопатологик, биометрик ва биоинформатик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

Ўзбекистоннинг айрим ҳудудларида касалланган нўхат, мош, ловия, ясмиқ, соя ўсимликлари намуналари ва тупроқ микобиоталарининг тур таркиби аниқланган;

илк бор Ўзбекистонда микобиотаси учун янги *Fusarium persicinum*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae* турлари касалланган дуккакли экинлардан ажратиб олинган ва идентификация қилинган;

илк Ўзбекистонда учрайдиган *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium persicinum*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae* штамларини *tef-1a* ген фрагментининг ва ITS регионининг нуклеотидлар кетма-кетлиги аниқланган.

морфологик ва молекуляр генетик усуллар билан аниқланган турларнинг патогенлик хусусиятлари Хилл ва бошқалар усули ёрдамида аниқланган;

аниқланган штаммлар моноспора культураларининг коллекцияси яратилди ҳамда коллекцияда узоқ муддатда сақлаш оптимизация қилинган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти “Фитопатоген ва бошқа микроорганизмлар коллекция” си ноёб илмий объекти генофонди 19 турларга ва 10 та туркумга оид 22 та штамм билан бойитилган ҳамда электрон базаси яратилган;

патоген моноспорали культураларни коллекцияга узоқ муддатда сақлаш учун оптимизация қилиш усуллари ишлаб чиқилган;

фермер хўжалигида мош, ловия ўсимликларида фузариоз сўлиш, илдиз ва илдиз бўғзи чириши, барг ва пояларнинг кўнғир доғланиши дуккак меваларнинг пуч бўлиши билан касалланган дуккакли экинларда патогенларнинг молекуляр-генетик диагностикаси жорий қилинган ва ушбу касалликларга қарши алмашлаб экиш тизими тавсия қилинган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги. Тадқиқот натижаларининг ишончилиги таҳлилларнинг замонавий молекуляр-биологик ва микробиологик бир-бирини тўлдирувчи усулларни қўллаш орқали олиб борилганлиги билан тасдиқланади. Илмий натижалар анъанавий статистик, замонавий статистик ва SnapGene, MEGA11 биоинформатик дастури ёрдамида таҳлил қилинди. Сиквенс натижалари GeneBank NCBI маълумотлари билан BLAST дастури ёрдамида таққосланди ва ушбу маълумотлар базасига жойлаштирилди. Олинган барча илмий натижаларнинг Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти экспертлар комиссияси хулосаси асосида рецензияланган илмий журналларда мунтазам равишда нашр этилиб борилганлиги, шунингдек, республика ва халқаро конференцияларда муҳокамаси билан тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти республикамизда касаллик кўзғатувчи *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* туркумлари турларининг таркиблари аниқланганлиги, илк бор Ўзбекистон шароитида касалланган дуккакли экинларда *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae* турлари учраши қайд этилганлиги ҳамда уларнинг морфологияси, молекуляр генетик ва патогенлик хусусиятлари асосланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* туркумларининг Ўзбекистонда янги турлари билан коллекция бойитилиши, фермер хўжаликларида олиб борилган илмий тажрибалар асосида мош, ловия ўсимликларида фузариоз ва антракноз, альтернариоз касалликларини аниқлашда фитопатоген микроорганизмлар турларининг таркиби ва ўзига хос патогенлик хусусиятларини аниқлаш, уларга қарши кураш чораларини ишлаб чиқиш ва ДНК таҳлили асосида турларни идентификация қилиш орқали ушбу касалликларга қарши ўз вақтида кураш чоратадбирларини амалга оширишда асос бўлиб хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Дуккакли экинларнинг микробиотаси, фитопатоген турларнинг идентификацияси ва культураларни коллекцияда сақлашни оптимизацияси жараёнида олинган илмий натижалар асосида:

Республикамизда нўхат, соя, мош, ловия дуккакли экинларда фузариоз сўлиш ва чириш касаллигини кўзғатувчи замбуруғ штамmlарининг соф культуралари *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium persicinum*, *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alstroemeriae*, *Macrophomina phaseolina* турларини Жаҳон микроорганизмлар маълумотлар марказининг Микроорганизмлар Миллий коллекциясида (World Data Center for Microorganism (WDCM) Collection of plant pathogenic and other microorganisms) маълумотлар базасида

GERB WDCM №1228 (<https://ccinfo.wdcm.org/results?kwd=1228>) рўйхатдан ўтказилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2022 йил 9 сентябрдаги 4/1255-2216-сон маълумотномаси). Натижада дунёнинг турли минтақаларида тарқалган *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* туркумларига оид турларини тадқиқ қилишда глобал доирада фойдаланиш имконини берган;

нўхат, соя, мош, ловия дуккакли касаллик кўзғатувчи замбуруғларнинг 8 штамми: *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum*– R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 *tef-1a* гени фрагменти ҳамда *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 штамmlарининг ITS регионига асосланган тур сиквенци бўйича олинган натижалар NCBI (АҚШ Миллий Биотехнология Ахборот Маркази), EMBL-EBI Европа нуклеотид архиви (Буюк Британия, Кембридж) ва DDBJ Япония ДНК маълумотлар базасида (<http://www.ebi.ac.uk>) OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774 OQ073449, OQ073450 ID рақамлари орқали рўйхатдан ўтказилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2023 йил 16 мартдаги №4/1255-548-сон маълумотномаси). Натижада Ўзбекистон ҳудудида дуккакли экинларни касаллантирувчи *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* замбуруғларининг туркуми турларининг штамmlари ўзига хослигини аниқлаш ҳамда ушбу штамmlарнинг нуклеотидлар кетма-кетликлари маълумотларини дунёнинг турли минтақаларида учровчи штамmlар билан таққослаш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 9 та, жумладан 2 та халқаро ва 7 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 15 та илмий иш нашр қилинган, шулардан 6 таси Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда, жумладан, 4 таси республика ва 1 таси хорижий журналларда ҳамда 1 та монография нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 118 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ишнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва асосий вазифалари тавсифланган, Ўзбекистон Республикаси фан ва технологиялари ривожлантириш устувор йўналишларига мослиги, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий этиш, чоп этилган илмий ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Дуккакли экинларининг микобиотаси, фитопатоген турларининг идентификацияси ва уларнинг культураларини коллекцияда сақлаш**» деб номланган биринчи бобида дуккакли дон экинлари майсалар чириши ва нобуд бўлиши, илдиз чириши касалликлари, *Pythium* туркуми турлари, *Fusarium* туркуми турлари, дуккакли дон экинларининг бошқа замбуруғ турлари қўзғатувчи касалликлари *Fusarium* туркуми вакиллари қўзғатувчи замбуруғларнинг фузариоз касалликлари, фузариоз сўлиш касалликлари, ловиянинг фузариоз вилт касаллиги, нўхатнинг, мошнинг, ясмиқнинг, соянинг фузариоз сўлиш касаллиги, дуккакли дон экинларининг *Ascochyta* туркуми вакиллари қўзғатувчи замбуруғларнинг аскохитоз касалликлари, нўхатнинг ва ясмиқнинг аскохитоз касаллиги, дуккакли дон экинларининг илдиз қуруқ ёки қора-кўмир чириши касалликлари, фитопатоген замбуруғ турларининг культураларини коллекцияда сақлаш бўйича олиб борилган илмий ишларнинг шарҳи келтирилган. Чоп этилган кўплаб мақолалардаги натижаларнинг критик таҳлили мазкур ишнинг асосий мақсади ва вазифаларини шаклланишига имкон берди.

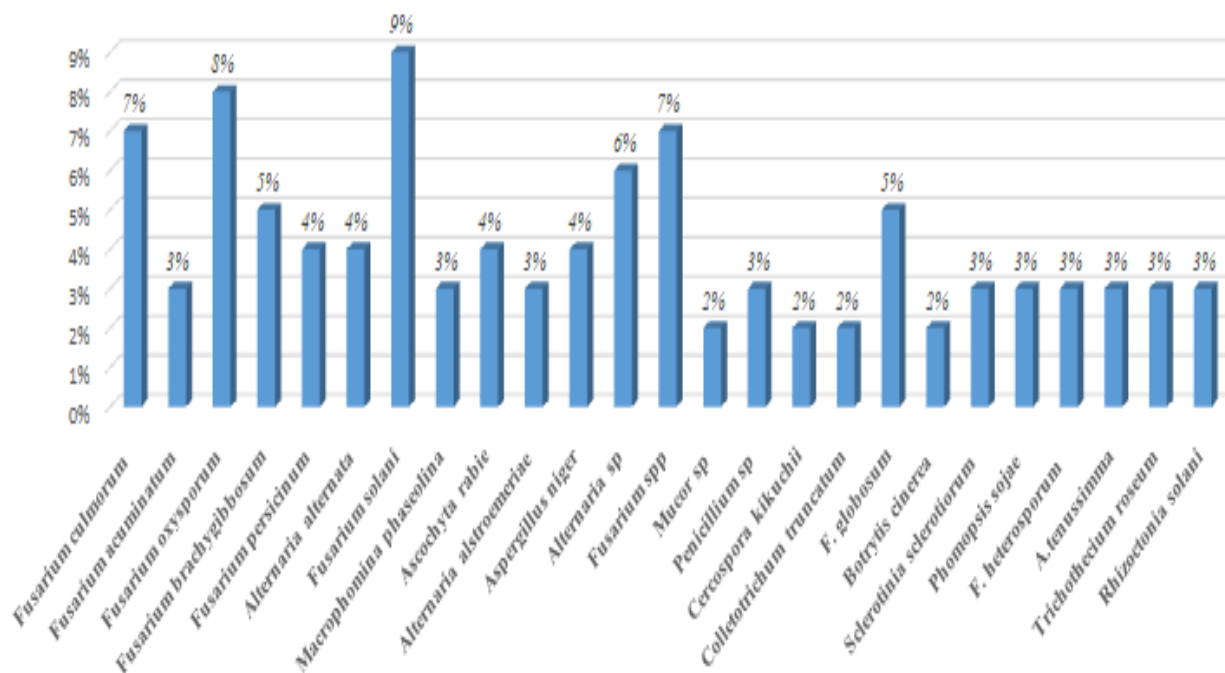
Диссертациянинг «**Дуккакли экинларнинг фитопатоген замбуруғ турларини идентификация қилиш ва молекуляр-биологик тадқиқотларни амалга оширишда қўлланиладиган усуллар**» деб номланган иккинчи бобида объект, шунингдек материал ва тадқиқот услублари кенг тавсифланган. Тадқиқот услубларида республикамизнинг айрим ҳудудларидан касалланган дуккакли ўсимлик намуналарини йиғиш ва замбуруғларининг соф культураларини ажратиш, замбуруғларини ўстириш учун оптимал шароитларни танлаш ва оптимал параметрларни аниқлаш, замбуруғлари моноспорали культураларининг морфологик-культурал белгилари ва турлар идентификацияси, молекуляр-генетик усуллар ёрдамида турларни идентификация қилиш усули, замбуруғларининг соф моноспорали культураларини коллекцияда сақлашни оптимизация қилиш усули ПЗР маҳсулотларини тозалаш ва уларнинг концентрациясини спектрофотометрик (Nanodrop) усулида ўлчаш, сэнгер сиквенс реакцияси усули, сиквенс реакция маҳсулотини тозалаш усули, сиквенс натижаларни биоинформатик дастурларда таҳлил қилиш ва NCBI маълумотлар базаси билан таққослаш усулларида фойдаланилган.

Диссертациянинг «**Ўзбекистоннинг айрим вилоятларида дуккакли ўсимликларда касаллик қўзғатувчи фитопатоген микромицетлари ва тарқалиш даражалари**» номли учинчи бобида тупроқ ва касалланган дуккакли ўсимликларнинг микологик экспертизаси, фитопатоген микромицетларнинг моноспора изолятини ажратиш, тозалаш ва морфологик-культурал белгилари асосида идентификациялаш, айрим замбуруғларнинг молекуляр-генетик усуллар ёрдамида турлар идентификацияси бўйича тадқиқот натижалари келтирилган.

Республикамизнинг айрим Андижон, Жиззах, Тошкент, Сирдарё вилоятлари ҳамда Қорақолпоғистон Республикасида дуккакли ўсимликлар экилиб келинаётган далаларида фитосанитар назорати ўтказилди.

Фитосанитар ўтказиш давомида далаларига экилган дуккакли экинларнинг фитопатоген замбуруғлар билан зарарланиш симптомлар борлиги кузатилди. Кузатишлар натижасида ўсимлик органларида илдиз, илдиз бўғзи чириш, барглarning доғланиши, поянинг сўлиш ва турли хил доғлар билан касалланганлиги кузатилди ва ушбу далалардан касалланган ўсимлик ҳамда тупроқ намуналарни микологик экспертиза ўтказиш учун олинди. Касалланган ўсимликлардан ажратилган замбуруғлар штампларининг турларини аниқлаш учун турли хил озуқа муҳитларига экилди ва озуқа муҳитида колонияларнинг морфологияси, мицелий, макроконидия ва микроконидияларнинг микроскопик тузилишини ўрганиш асосида аниқланди.

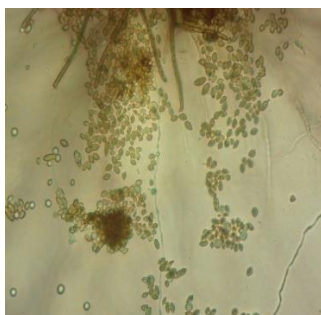
Дуккакли экинлар экилган далаларни фитосанитар назорат ўтказиш давомида йиғилган намуналардан микологик таҳлиллар натижасида 25 тур ва 10 туркумига мансуб сапротроф ва фитопатоген замбуруғларнинг 90 штамми ажратилди: *F. culmorum*-7%, *F. acuminatum*-3%, *F. oxysporum*-8%, *F. brachygibbosum*-5%, *F. persicinum*-4%, *A. alternata*-4%, *F. solani*-9%, *Macrophomina phaseolina*-3%, *Ascochyta rabie*-4%, *Alternaria alstroemeriae*-3%, *Aspergillus niger*-4%, *Alternaria sp*-6%, *Fusarium spp*-7%, *Mucor sp.* -2%, *Penicillium sp.*-3%, *Cercospora kikuchii*-2%, *Colletotrichum truncatum*-2%, *F. globosum* - 5%, *Botrytis cinerea* - 2%, *Sclerotinia sclerotiorum* – 3%, *Phomopsis sojae* - 3%, *F. heterosporum* - 3%, *A. tenuissima*-3%, *Trichothecium roseum*-3%, *Rhizoctonia solani*-3%. Улардан 7 та туркумга мансуб 19 тур дуккакли экинларда касаллик кўзгатувчи фитопатоген микромицеталар эканлиги аниқланди (1-расм).



1-расм. Андижон, Жиззах, Сирдарё, Тошкент вилоятлари ва Қорақалпоғистон Республикаси дуккакли экинларининг касалланган ўсимликлари намуналаридан ажратилган замбуруғларнинг тур таркиби



2-расм. *Macrophomina phaseolina* (КДА озуқа муҳитида)



3-расм габитус споралари (КДА озуқа муҳитида) 40x10)



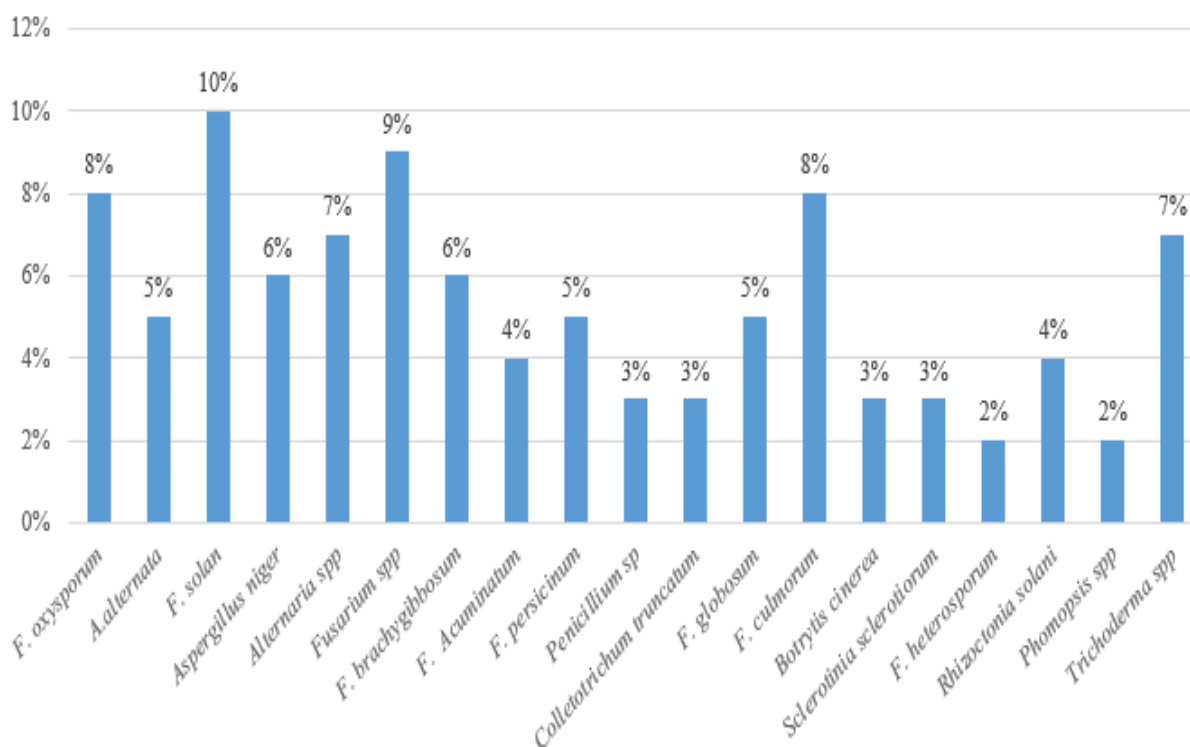
4- расм конидиялари (КДА озуқа муҳитида) 100x10)

Касалланган дуккакли экинларидан ажратилган замбуруғлар орасида *Fusarium* туркумига мансуб микромицетлар доминант эканлиги аниқланди, уларнинг улуши 51% ни, иккинчи ўринда *Alternaria* туркуми турлари 16% ни ташкил этди. Бошқа микромицетлар эса (*Ascochyta rabie*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus niger*, *Trichothecium roseum*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum truncatum*, *Penicillium* sp., *Mucor* sp.) 2-4% гача борлиги кузатилди ва ушбу тур кам учровчи турлар эканлиги аниқланди (2-4 расмлар).

Андижон, Жиззах, Сирдарё, Тошкент вилоятлари ва Қорақалпоғистон Республикасида дуккакли экинлар экилган далалардан олинган тупроқ намуналаридан микологик таҳлиллар олиб борилди.

Тупроқлар намуналарининг микологик таҳлили натижасида 19 тур ва 9 туркумга мансуб сапротроф ва фитопатоген замбуруғларнинг 70 та штамми ажратиб олинди: *F. oxysporum*-8%, *A.alternata*-5%, *F. solani*-10 %, *Aspergillus niger*-6%, *Alternaria* spp-7%, *Fusarium* spp.-9%, *F. brachygibbosum*-6%, *F. acuminatum*-4%, *F. persicinum*-5%, *Penicillium* sp.-3%, *Colletotrichum truncatum*-3%, *F. globosum*-5%, *F. culmorum*-8%, *Botrytis cinerea*-3%, *Sclerotinia sclerotiorum*-3%, *F. heterosporum*-2%, *Rhizoctonia solani*-4%, *Phomopsis* spp.-2%, *Trichoderma* spp. -7%, шулардан 5 та туркумга мансуб 14 турлар фитопатоген замбуруғлари ташкил қилди (5-расм).

Микологик тадқиқотлар натижасида тупроқ замбуруғлари таркибида *Fusarium* туркумига мансуб микромицетлар доминант эканлиги, уларнинг улуши 57% ни, *Alternaria* туркумига мансуб замбуруғлар тарқалиши бўйича иккинчи ўринда 12% ни ва *Trichoderma* туркуми турлари 7% ни ташкил этиши аниқланди. Қолган микромицетлар эса (*Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Colletotrichum truncaum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phomopsis* spp.) 2-6% гача эканлини аниқланди.



5-расм. Андижон, Жиззах, Сирдарё, Тошкент вилоятлари ва Қорақалпоғистон Республикасида дуккакли экинлар экилган далаларнинг тупроқ намуналаридан ажратилган замбуруғларнинг тур таркиби

Дуккакли экинлардан ажратилган 7 та – *F. acuminatum*, *F. camptoceras*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *Diaporthe phaseolorum* фитопатоген замбуруғ турларнинг таксономик ўрнини аниқлаш учун молекуляр-генетик идентификацияси амалга оширилди. Ушбу замбуруғларнинг геном ДНКси ажратилди ва ПЗР ўтказилди. ПЗР натижасида иккита маркер учун ўлчамдаги фрагментлар олинди: ген фрагменти *tef-1α* (717 ж.н.) ва ITS 600 ж.н.) региони, ПЗР натижасида иккита ўрганилган маркерлар учун кутилган ўлчамдаги фрагментлар олинди: *tef-1α* фрагменти (717 ж.н.) ва ITS региони (600 ж.н.) ва кейинчалик F ва R праймерлардан фойдаланган ҳолда сиквенс натижасида *tef-1α* генининг амплификация қилинган фрагментининг ва ITS регионинг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланди.

Нуклеотидлар кетма-кетлиги маълумотларини GenBank NCBI маълумотлар базасидан референт замбуруғларнинг нуклеотид кетма-кетликлар билан таҳлил қилиш натижасида замбуруғларнинг 3 туркумга (*Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*) мансуб 7 турининг 8 штамми идентификация қилинган (*F. acuminatum*, *F. persicinum*, *F. brachygibbosum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *A. alstromeriae*, *Macrophomina phaseolina*) (2-жадвал).

Фитопатоген замбуруғлар штаммларини турларининг морфологик белгилар ва молекуляр генетик усуллар билан идентификация қилиш қиёсий таҳлили

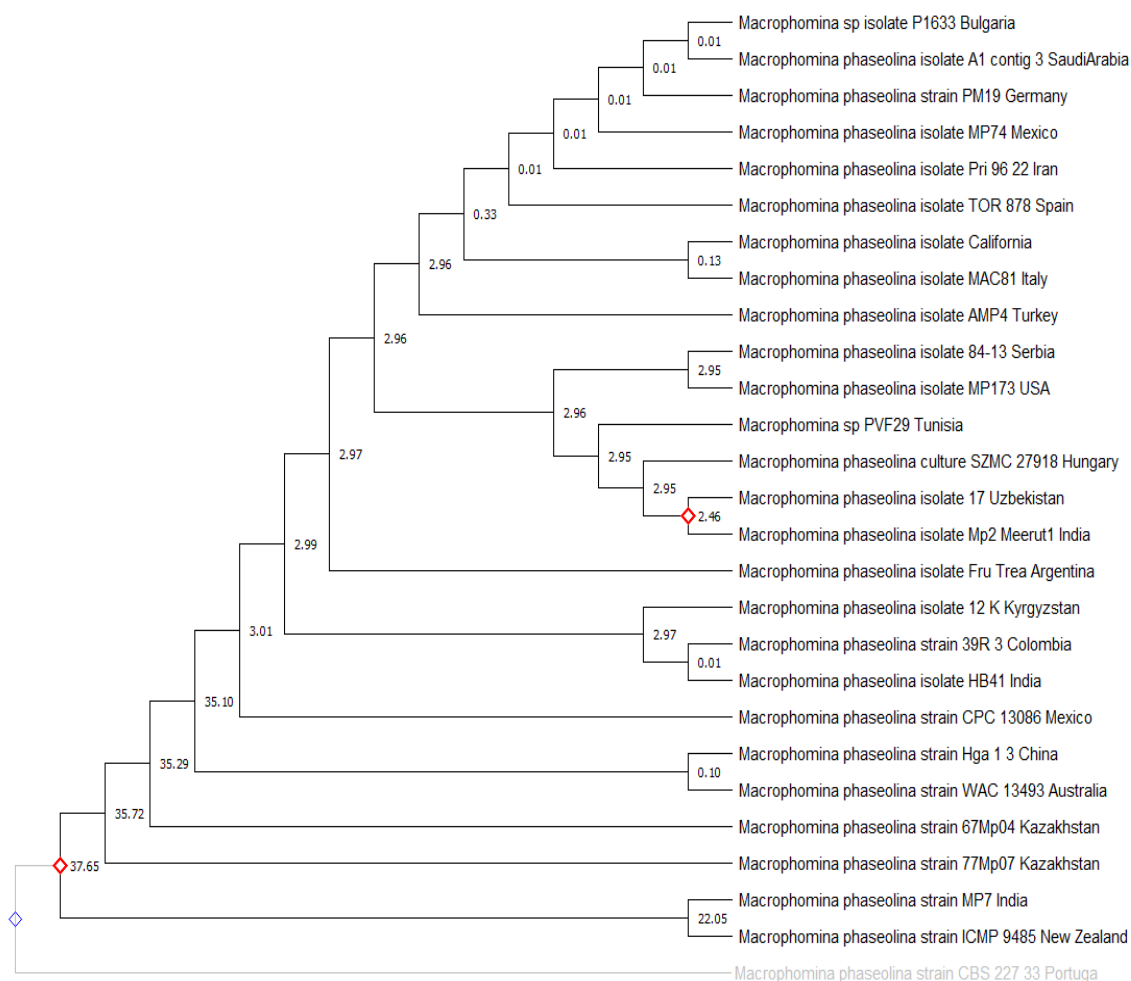
№	Замбуруғларни ажратилган худудни номи	Морфологик белгилари бўйича турларнинг идентификацияси	Молекуляр генетик усуллар бўйича турларнинг идентификацияси
1.	Жиззах	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. acuminatum</i> * R-23
2.	Сирдарё	<i>F. camptoceras</i>	<i>F. persicinum</i> * R-37
3.	Ташкент	<i>F. culmorum</i>	<i>F. brachygibbosum</i> * R-29
4.	Фарғона	<i>F. equiseti</i>	<i>F. equiseti</i> * R-25
5.	Қорақалпоғистон	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> * R-22
6.	Хоразм	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. acuminatum</i> * R-24
7.	Анджон	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria alstromeriae</i> ** R-21
8.	Тошкент	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i> ** R-17

Изоҳ: *tef-1a* генининг фрагменти * ITS региони **

Замбуруғлар турларининг культурал-морфологик ва молекуляр-генетик идентификацияси натижалари мос келиши 50% ни ташкил этди. Морфологик жиҳатдан *F. camptoceras*, *F. culmorum*, *A. alternata*, *Diaporthe phaseolorum* деб аниқланган 8 штаммдан тўрттаси сиквенс натижаларига кўра *F. persicinum*, *F. brachygibbosum*, *A. alstromeriae*, *Macrophomina phaseolina* турлари эканлиги аниқланди. *F. brachygibbosum* R-29 штаммининг *tef-1a* гени фрагментининг нуклеотидлар кетма-кетлигининг *Fusarium brachygibbosum* CPBf4 изолятининг (Ҳиндистон) *tef-1a* ген фрагменти кетма-кетлигига 99,84% ўхшашлигини кўрсатди.

BLAST таҳлили *F. persicinum* R-37 штаммининг *tef-1a* гени фрагментининг нуклеотидлар кетма-кетлигининг *Fusarium persicinum* CBS 479.83 штаммининг (Нидерландия) *tef-1a* ген фрагменти кетма-кетлигига 99,83% ўхшашлигини кўрсатди. BLAST таҳлили *Macrophomina phaseolina* R-17 штаммининг ITS региони нуклеотидлар кетма-кетлигининг BLAST таҳлили *Macrophomina phaseolina* 84-13 изолятининг (Сербия) ITS региони нуклеотидлар кетма-кетлигига 100% ўхшашлигини кўрсатди. *Alternaria alstroemiae* R-21 штаммининг ITS региони нуклеотидлар кетма-кетлигининг BLAST таҳлили *Alternaria alstroemiae* XZC-5 штаммининг (Хитой) ITS региони нуклеотидлар кетма-кетлиги 100% ўхшашлигини кўрсатди. *Fusarium acuminatum* R-23 штаммининг *tef-1a* гени фрагментининг нуклеотидлар кетма-кетлигининг BLAST таҳлили *Fusarium acuminatum* A49 изолятининг (Иран) *tef-1a* ген фрагменти нуклеотидлар кетма-кетлигига 100% ўхшашлигини кўрсатди.

F. equiseti R-25 штаммининг *tef-1a* гени фрагментининг нуклеотидлар кетма-кетлигининг BLAST таҳлили *Fusarium equiseti* штамининг АФВ4 (АҚШ) *tef-1a* ген фрагменти нуклеотидлар кетма-кетлигига 80.59% ўхшашлигини кўрсатди.


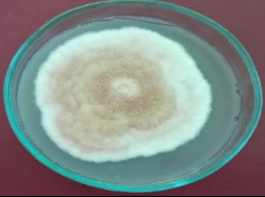
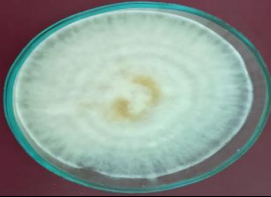
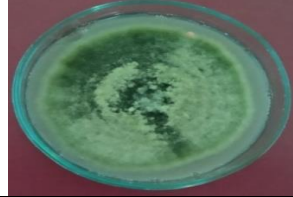

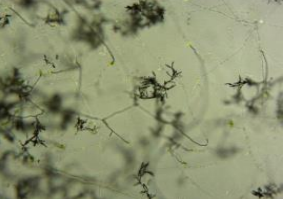



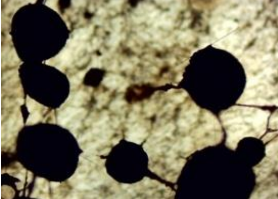


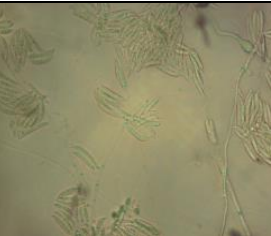

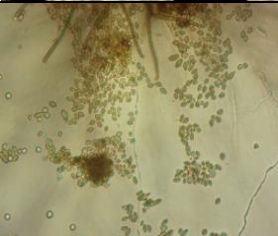


6-расм. *Macrophomina phaseolina* R-17 штаммининг ITS регионининг биоинформатик таҳлилига асосланган тур ичидаги молекуляр филогенияси.

Дуккакли экинларни зарарловчи 8 та штамми молекуляр-генетик усулда идентификация қилиниб, NCBI маълумотлар базасига киритилди. *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 замбуруғи штаммининг *tef-1a* гени фрагменти ҳамда *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 штаммининг ITS регионининг нуклеотид кетма-кетликлари NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/?term=>) маълумотлар базасида OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774 OQ073449, OQ073450 ID рақамлари орқали рўйхатдан ўтказилди(1-жадвал). Республикаимизнинг турли вилоятларидаги фермер хўжалиklarининг касалланган дуккакли экинлардан ажратиб олинган *Fusarium persicinum* R-37, *Fusarium acuminatum* R-23, *F. equiseti* R-25 ва *Fusarium brachygibbosum* R-29 штамmlарининг *tef-1a* гени фрагменти ва *Macrophomina phaseolina* R-17 ҳамда *Alternaria alstroemeriae* R-21 фитопатоген замбуруғларининг ITS регионига асосланган NCBI базасига жойланган дунёнинг бошқа ҳудудларидаги штаммалари билан тур ичидаги молекуляр филогенияси ишлаб чиқилди(6-расм).

1-жадвал

Дуккакли ўсимликларнинг замбуруғ касалликлари қўзғатувчиларининг тур хилма-хиллигининг асосий макро ва
микроморфологик хусусиятлари ва молекуляр генетик белгилари

Морфологик белгилари	<i>F. persicinum</i>	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. brachygibbosum</i>	<i>A. alstromeriae</i>	<i>M. phaseolina</i>
Морфологик кўриниш					
Споралар габитуси					
Конидиялари					
Конидиялар тузилиши	ипсимон-ёйсимон, тўғри ёки қисман эгилган	Чўзинчоқ учки тамони ўткир тиғизли	Овалсимон эгилган	тескари тўқмоқ, тухум ёки тор эллипсоид шаклли апаикал қисми узун	Склерций овал
Конидиялар ўлчами мкм	23-40 x 5-7 мкм x 9.8x 3.5 мкм	21.95 x 37.84 мкм x 2.99 3.29 мкм	19.7 x 3.5 мкм x 10.7 x 3.2 мкм	29.8 x 6.6 мкм 10.7 x 1.2 мкм	микросклерция 50-70 мкм диаметр (60-200 мкм)
Ранги	қаймоқ рангдан апельсин оқ- сарғиш	сарик, ёки қизил ёкут рангли	оқ, қизғиш	яшил, тўқ кулранг, куюқ зайтун, қора	Жиггар ранг тусли қора нуқтали
Секвенс қилинган гени	<i>tef- 1a</i>	<i>tef- 1a</i>	<i>tef- 1a</i>	ITS	ITS
NCBI базасига жойланган код ID	OP716773	OP716770	OP716772	OQ073449	OQ073450

Диссертациянинг «Дуккакли ўсимликлардан ажратилган фитопатоген микромицетларнинг патогенлик хусусиятларини скрининг қилиш ва уларнинг культураларни коллекцияда сақлашни оптимизация қилиш» деб номланган тўртинчи бобида Хилл ва бош усули ёрдамида фитопатогенларни скрининг қилиш, фитопатоген микромицетларнинг тирик культурасини ажратиш ва уларни коллекцияда сақлашга тайёрлаш, культураларни сақлашни оптимизация қилиш таҳлиллари бўйича олинган тадқиқот натижалари баён этилган.

Республикаимизнинг турли худудларида касалланган нўхат, мош, ловия, ясмиқ ва соя ўсимликларидан ажратиб олинган 10 туркумга оид 19 та турга мансуб 37 та фитопатоген замбуруғ штаммлари махсус Хилл ва бошқа усули ёрдамида лабораторияда патогенлик хусусиятларини скрининг қилиш устида тажрибалар олиб борилди. (3-жадвал)

Нўхат, мош, ловия ва соя ўсимликларидан *in vitro* усулида ажратилган замбуруғ изолятлари билан сунъий зарарланганда *Fusarium* туркуми турларининг № 3, 7, 8, 9, 10, 19, 22, 15, 30 штаммлари ва *Alternaria tenussimma* № 16 ва *Alternaria alternata* № 1 штаммлари нўхат, мош, ловия ва сояни зарарлаб, тўлиқ патогенлик хусусиятларини кўрсатди яъни улар ушбу ўсимликларга муайян даражада ихтисослашганлиги аниқланди. *Ascochyta rabiei* нинг №23, 25 ва 29 штаммлари тажрибадаги нўхатдан бошқа ўсимликларни жуда кам зарарлаб, тор ихтисослашганлиги аниқланди, чунки улар фақат нўхат ўсимликларига таъсир кўрсатди. *Alternaria* туркумига кирувчи №6, 12, 16, 21 ва 33 штаммлар мош ва соя ниҳолларини зарарлаши кузатилди, улар тор ихтисослашмаган эканлиги аниқланди. Бундан ташқари, *Fusarium globosum*-30, *Cladosporium oxysporium*-28, *Trichothecium roseum*-36, *Diaporthe phaseolorum*-37 штаммлари нўхат, соя ва ловия ниҳолларини кучли зарарлаши аниқланди.

Ascochyta rabiei нинг №23, 25, 29 штаммлари нўхат ниҳолларининг фитопатологик зарарланиши 3 балл - эпикотиль ёки илдизларнинг кучли қорайиши билан баҳоланди. *Ascochyta rabiei* №23, 25, 29 штаммлари соя, мош ва ловия ўсимликларида зарарлаши 1 балл - эпикотиль ёки илдизларнинг бироз қорайиши билан баҳоланади.

Alternaria alternata №12 штамми тажриба ўсимликларига етказилган фитопатологик зарар 3 балл билан баҳоланди – эпикотиль ёки илдизларнинг ўртача қорайиши кузатилди. *F. oxysporium* № 2, 4 штаммлари 0 балл билан баҳоланди - кўчатларда касалликларнинг йўқлиги аниқланди.

3-жадвал

Дуккакли ўсимликларнинг замбуруғ касаликлари ва уларни қўзғатувчи турлар

Ўсимлик	Касаллик	Қўзғатувчи замбуруғ	Ўсимликнинг касалланган органи
Нўхат, соя, мош	Альтернариоз	<i>A. alternata</i> , <i>A. alstroemeriae</i>	Барг, дуккакги, уруғи
Ловия	Антракноз	<i>Colletotrichum truncatum</i>	Ниҳоли, пояси, дуккакги
Соя, мош	Оқ чириш (склеротиниоз)	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Ниҳоли, пояси, барги, дуккакги, уруғи
Мош, ловия	Кулранг чириш	<i>Botrytis cinerea</i>	Ниҳоли, пояси, уруғи
Ловия, мош, соя	Поя ва дуккакнинг куйиши	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Пояси, барги, дуккакги, уруғи

3-жадвал давоми

Соя	Сиёхранг церкоспороз	<i>Cercospora kikuchii</i>	Ниҳоли, барги, пояси, уруғи
Ловия	Поя раки	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	Ниҳол, пояси, барги, дуккакги
Нўхат	Аскохитоз	<i>Ascochyta rabiei</i>	Ниҳол, пояси, барги, дуккакги
Нўхат, мош, ловия, ясмиқ, соя	Фузариоз сўлиш, трахеомикоз	<i>F. oxysporum, Fusarium acuminatum F. brachygibbosum</i>	Пояси, илдизи, дуккакги, уруғи
Нўхат, мош, ловия, ясмиқ, соя	Фузариоз чириш	<i>F. persicinum, F. solani F. sambucinum F. culmorum F. heterosporum</i>	Пояси, илдизи, уруғи, ниҳоли

Коллекциядаги фитопатоген замбуруғлар штаммларини узоқ муддатли сақлашнинг тўртта усули ўртасида узоқ муддатга сақлаш ва озуқа муҳитлар учун молиявий харажатларнинг қийсий таҳлили ўтказилди: 1) Культураларни вазелин ёғи остида +5°C да сақлаш усулида; 2) мини 1,5 мл Эппендорф пробиркаларида +5°C ҳароратда сақланганда; 3) +5°C ҳароратда агарли муҳитининг пахта - дока тикинлари бўлган шиша биологик пробиркаларда; 4) +5°C ҳароратда силикон тикинлар флаконларда сақлаш:

Коллекцияда узоқ муддатга сақлашда Эппендорф пробиркаларда сақланаётган штаммлар вазелин мойи остида сақланаётган штаммларга нисбатан озуқа муҳитнинг сарф харажатлари таққосланди яъни самарадорлик 1 л озуқа муҳитга кетадиган агаг-агар ҳисоблаб чиқилди бунда 1 л озуқа муҳит тайёрллаш учун 20 гр агар-агар кетади, 1 л озуқа муҳит ҳар бир пробиркага 10 граммдан куйилади ва 100 та пробирка бўлади. 1.5 мл эппендорф пробиркага 0.65 мл 1 л озуқа муҳит солинганда ва 1538 та пробиркага тақсимланади. Эппендорф пробиркада сақлаш усулининг вазелин мойи остида сақлаш усулига нисбат 15,38 марта самарали бўлиб культураларнинг коллекцияда 60 ойгача сақланиш муддати аниқланди.

Флаконларда сақланаётган штаммлар биологик пробиркаларда сақланаётган штаммларга нисбатан озуқа муҳит сарф меъёри ҳамда самарадорлик 1 л озуқа муҳитда ҳар бир пробиркага 20 граммдан куйилганда ва 50 та пробирка етади. Шунингдек, 1 та флаконга 3.5 мл солинди ва бу 285 та флаконга етди. Флаконда сақлаш усулининг биологик пробиркаларда сақлаш усулига нисбатан 5.7 марта самарали эканлиги аниқланди. Коллекцияда культураларнинг сақланиш муддати биологик пробиркалар 6 ойгача бўлган бўлса флаконларда культураларнинг сақланиш муддати 12 ойгача ҳаётчанлиги сақланиб қолиши кузатилди.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор Ўзбекистон шароитида *Fabaceae* оиласининг айрим вакилларида *Fusarium acuminatum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium persicinum*, *Alternaria alstromiriae*, ва *Macrophomina phaseolina* фитопатоген замбуруғларнинг штаммлари ажратиб олинди.

2. Дуккакли экинларининг микобиотаси, фитопатоген турларининг идентификациясини аниқлаш мақсадида олиб борилган микологик таҳлиллар натижасида республикамизда касалланган дуккакли экинларида 25 та тур ва 10 та туркумга мансуб сапротроф ва фитопатоген замбуруғларнинг 90 та штамми ажратилди, улардан 7 та туркумга мансуб 19 та тур фитопатоген

микробицетлар эканлиги аниқланди. Тупроқ намуналарининг микологик таҳлил натижасида 19 та тур ва 9 та туркумга мансуб сапротроф ва фитопатоген замбуруғларнинг 70 та штамми ажратилди, шулардан 5 та туркумга мансуб 14 та турлар фитопатоген замбуруғлари ташкил қилди.

3. Дуккакли экинларни зарарловчи 8 та штамм молекуляр-генетик усулда идентификация қилиниб, NCBI маълумотлар базасига киритилди. *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 замбуруғи штаммининг *tef-1a* гени фрагменти ҳамда *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 штаммларининг ITS регионига асосланган бўйича олинган натижалар NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/?term=>) маълумотлар базасида OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774 OQ073449, OQ073450 ID рақамлари орқали рўйхатдан ўтказилди.

4. Республикамизнинг турли вилоятлардаги фермер хўжаликларининг касалланган дуккакли экинлардан ажратиб олинган фитопатоген микроорганизмлардан *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 замбуруғ штаммларининг *tef-1a* гени фрагменти ҳамда *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstromeriae* R-21 ITS регионига асосланган дунёнинг бошқа ҳудудларидаги штаммлари билан тур ичидаги молекуляр филогенияси тузилди.

5. Илк бор Хилл ва бошқалар усулидан фойдаланиб, республикамизнинг турли ҳудудларидаги дуккакли ўсимликларнинг касалланган ўсимликларидан ажратиб олинган замбуруғ штаммларнинг патоген хусусиятлари аниқланди. Тажрибалар якунида *Fusarium culmorum*-15, *Fusarium solani*-22, *Ascochyta rabie*-25, *Cercospora kikuchi*-35, *Trichothecium roseum*-36, *Alternaria tenuissima*-21 ва *Phomopsis sojae*-37 штаммлари *Fabaceae* оиласи вакиллари нўхат, мош, ловия, ва соя ўсимликлари илдиз, илдиз бўғзи чириш ва ниҳол касалликларини келтириб чиқариши исботланди. Ушбу штаммлар дуккакли экинларнинг навлари, тизмалари ва дурагайлари замбуруғ касалликларига чидамликни скрининг қилиш ва ушбу касалликларга чидамли янги навларини ишлаб чиқиш тавсия этилди.

6. Қорақалпоғистон Республикасида фермер хўжалигида олиб борилган илмий тажрибалар асосида мош, ловия ўсимликларида фузариоз ва антракноз, альтернариоз касалликларини аниқлашда фитопатоген микроорганизмларнинг турларининг таркибини аниқлаш, касалликларнинг ўзига хос морфологик хусусиятлари ва ДНК таҳлили асосида турларни идентификация қилиш орқали ушбу касалликларга ўз вақтида қарши кураш чора-тадбирларини ҳамда бошқа қишлоқ хўжалиги экинлари билан алмашлаб экиш механизми амалиёти учун тавсия этилди.

7. Ўзбекистоннинг турли ҳудудларининг дуккакли экинларида касаллик келтирувчи фитопатоген замбуруғлар коллекцияси яратилди, ушбу коллекция фитопатологик, генетик, иммунологик, токсикологик ва бошқа тадқиқотларни, ўсимлик касалликларини мониторингини ва уларни назорат қилиш замонавий усулларни ишлаб чиқиш мақсадида фундаментал тадқиқотларни амалга оширишга, селекцион материалида ўсимликларнинг чидамлик генларини бирламчи скринингдан ўтказиш учун катта имкониятлари қайд этилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.В.38.01 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ
МИКРОБИОЛОГИИ**

**ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

РУЗМЕТОВ ДИЛШОД РУСТАМ ЎҒЛИ

**МИКОБИОТА БОБОВЫХ КУЛЬТУР, ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ
ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ИХ
ХРАНЕНИЯ В КОЛЛЕКЦИИ**

03.00.04 – микробиология и вирусология

**АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PHD) ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ
НАУКАМ**

Ташкент – 2023

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2022.4.PhD/В802.

Диссертация выполнена в Институте Генетики и экспериментальной биологии растений. Автореферат диссертации на трёх языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещён на веб-странице Научного совета (microbio@academy.uz) и на Информационно-образовательном портале «Ziynet» (www.ziynet.uz).


Научный руководитель:	Шеримбетов Анвар Гулмирзаевич доктора философии по биологическим наукам, старший научный сотрудник
Официальные оппоненты:	Хасанов Батыр Ачилович доктор биологических наук, профессор Кадирова Гульчехра Хакимовна доктор биологических наук, старший научный сотрудник
Ведущая организация:	Национальный университет Узбекистан

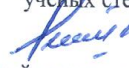
Защита диссертации состоится « 18 » июля 2023 года в 10:00 часов на заседании Научного Совета DSc.02/30.12.2019.B.38.01 при Институте микробиологии (Адрес: 100128, г. Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А. Кадырий, 7б, конференц-зал Института микробиологии, 2 этаж Тел.: (+99871)241-92-28, (+99871)241-71-98, факс: (+99871)241-92-71, 246-02-24, e-mail: info-microbio@academy.uz).


С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегистрирована под № ____). Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А. Кадырий, 7б, Административное здание Института микробиологии, 5-й этаж, библиотека. Тел.: (+99871) 241-92-28.

Автореферат диссертации разослан 4.07 2023 года.
(реестр протокола рассылки № от «4.08» 2023 года).




Арипов Тахир Фатихович
Председатель Научного совета по присуждению учёных степеней, б.ф.д., профессор, академик


Жураева Рохила Назаровна
Ученый секретарь Научного совета по присуждению учёных степеней, к.б.н., старший научный сотрудник


Гулямова Ташхан Гафуровна
Председатель научного семинара при Научном совете по присуждению учёных степеней, д.б.н., профессор

Введение (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации.

В мировом земледелии бобовые культуры стоят на втором месте после злаков, и в качестве важного источника пищи выращиваются примерно на 93,54 млн га обрабатываемых земель, при урожайности 90 млн тонн. Следует отметить, что бобовые культуры обладают высокой пищевой ценностью, содержат большое количество белков, имеющих в своём составе все незаменимые аминокислоты, углеводы, клетчатку, минеральные вещества и витамины. Известно, что грибковые заболевания являются одним из самых вредных биотических факторов, которые могут вызывать снижение урожайности бобовых культур от 15 до 80 %. В мире существуют более 200 фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания бобовых культур. Среди них *Fusarium*, *Alternaria* и *Ascochyta* являются наиболее распространёнными и высокопатогенными возбудителями во всех регионах мира. Поэтому важно своевременно выявлять грибные заболевания бобовых культур, проводить фитосанитарный мониторинг и определять видовой состав фитопатогенных грибов.

В мире проводятся систематические научные исследования, посвящённые распространению и поражению грибными болезнями зернобобовых культур, их ранней диагностики и генотипического разнообразия фитопатогенных грибов. В связи с этим установление распространённости болезнетворных видов грибов у бобовых культур, их характеристика, выявление трудновыявляемых фитопатогенных грибов на всех растениях на ранних стадиях развития болезни с использованием наиболее эффективных методов, применение молекулярно-генетического анализа в микологии, критический пересмотр существующих таксономических систем, а также анализ генетических, экологических, популяционно-биологических аспектов и факторов вредоносности, оптимизация методов хранения культур фитопатогенных грибов в коллекции, а также морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация видовой состава, анализ филогении фитопатогенных грибов, выделенных из бобовых культур имеют важное научное и практическое значение.

В нашей республике особое внимание уделяется разработке и проведению широких мероприятий по ранней диагностике распространения фитопатогенных грибных болезней сельскохозяйственных растений и борьбе с ними. В Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы были отмечены важные задачи по «...созданию и внедрению новых сортов сельскохозяйственных культур, устойчивых к болезням и вредителям и адаптированных к местным условиям и обеспечение укрепления продовольственной безопасности страны». В реализации данных задач определение видовой состава фитопатогенных грибов, встречающихся у бобовых культур в некоторых регионах, и оценка их патогенных свойств имеет очень важное значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-5853 от 23 октября 2019 года «Об утверждении Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы», в Указе Президента Республики Узбекистан № УП-60 от 28 января 2022 года «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы», В Постановлении Кабинета Министров Республики Узбекистан, от 10.02.2018 г. № 105 «О мерах по дальнейшему увеличению объемов выращивания сои в республике» и других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы.

В мировой научной литературе накоплены многочисленные данные по видовому составу возбудителей, распространению и вредоносности грибных болезней бобовых культур (Biddle A.J., 2007; Курилова Д.А., 2010; Buruchara R et al., 2010; Ellis M.L., 2012; Seebold K.W. 2014; Burrows M. 2017; Markell S., 2021; Batzer J.C et al., 2022; Elmerich C. 2022; Lin F et al., 2022). Опубликовано значительное число работ, посвященных морфологии и таксономии фитопатогенных грибов (Leslie J.F. Summerel B.A., 2006; Simmons 2007; Acharya B et al., 2015; Henrique F.H. et al., 2023; Berg N et al., 2023). В настоящий момент важную роль в изучении фитопатогенных грибов, а также их видовой принадлежности, играют молекулярно-генетические методы, включающие исследование таких локусов, как гены фактора элонгации трансляции 1 альфа (*tef1a*), бета-тубулина (*β -tub*), и ITS региона, которые успешно применяются в молекулярной идентификации фитопатогенных микромицетов и в их филогенетическом анализе (Vitor Fernandes et al., 2010; Obanor F et al., 2010; Singha I.M et al., 2016; Rincon M. et al., 2016; O'Donnell K., 2022). Комплексному изучению коллекций фитопатогенных микромицетов посвящены исследования известных специалистов (Ф.Б. Ганнибал., 2004; Т.Ю. Гагкаева., 2005; О.П. Гаврилова., 2014).

Видовой состав и систематика грибов, относящихся к фитопатогенным микромицетам, вызывающим болезни у бобовых растений в Республике Узбекистан, изучались отечественными исследователями (Махмудходжаев Н.М. Сагдуллаев А.У., 2012; Рахманов Ж., 2018; Нахалбаев Ж. Т., 2021). Они проводили эксперименты по исследованию штаммов фитопатогенных грибов, выделенных из растений и почв, а также по ПЦР-диагностике и молекулярно-генетической идентификации фитопатогенных микромицетов (Мухамедов Р.С., 1996; Эгамбердиев Ш.Ш., 2016).

Следует отметить, что в приведенных исследованиях отсутствуют полные сведения по морфологической и молекулярно-генетической видовой

идентификации фитопатогенных микромицетов бобовых растений. Научные исследования, направленные на определение условий длительного хранения фитопатогенных грибов и их оптимизацию, ранее не проводились в Узбекистане. В связи с этим, идентификация видового состава фитопатогенных микромицетов и их длительное хранение в коллекции имеет важное научное и практическое значение.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного или научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института генетики и экспериментальной биологии растений в рамках прикладного проекта ФА-А-КХ-2018-223 «Отбор перспективных линий зерновых (рож и тритикале) и бобовых (маш, фасоль, нут и др) из коллекционного материала адаптированных к местным условиям республики, устойчивых к стресс факторам и разработка агро- и биотехнологии возделывания» (2018-2020 гг.) и А-ФА-2021-7 «Создание механизма устойчивости местных сортов бобовых и масличных культур к фитопатогенным грибам посредством физиологических биохимических методов» (2021-2023 гг.)

Целью исследования является определение видового состава, морфологическая, молекулярно-генетическая идентификация, определение филогении, оценка патогенных свойств, а также создание коллекции чистых культур и оптимизация условий длительного хранения в коллекции фитопатогенных грибов, выделенных из бобовых культур в некоторых регионах Республики Узбекистан.

Задачи исследования:

Проведение полевого фитосанитарного обследования некоторых регионов Республики Узбекистан и сбор образцов пораженных растений бобовых культур;

проведение микологического исследования собранных проб растений и почв, выделение чистых культур фитопатогенных видов микромицетов;

проведение макро- и микро-морфологической и молекулярно-генетической идентификации выделенных изолятов грибов методом баркодирования ДНК с использованием ДНК маркеров(фрагмента гена *tef-1a*, ITS региона);

проведение анализа нуклеотидных последовательностей ДНК фрагмента гена *tef-1a* и ITS региона фитопатогенных микромицетов поражающих бобовые культуры с помощью биоинформатических программ и разработка их молекулярной филогении;

определение патогенных свойств по методу Хилла и др. видов, идентифицированных морфологическими и молекулярно-генетическими методами;

создание коллекции моноспоровых культур идентифицированных штаммов и оптимизация условий их длительного хранения в коллекции.

Объектом исследования служили штаммы фитопатогенных микромицетов, относящиеся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*, а также относящихся к другим родам, выделенные из больных растений и почв посевов бобовых культур в различных регионах Республики Узбекистан.

Предметом исследования являлось выделение чистых культур фитопатогенных микромицетов из больных растений и почв в посевах бобовых культур различных регионов республики. Морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация и молекулярно-филогенетический анализ идентифицированных штаммов со штаммами в базе данных NCBI, а также скрининг их патогенных свойств, создание коллекции данных штаммов и оптимизация условий их длительного хранения.

Методы исследования. При проведении исследований использовались методы фитосанитарного обследования посевов бобовых культур, общефитопатологические, биометрические, микологические, микробиологические, микроскопические, молекулярно-генетические (выделение геномной ДНК, гель-электрофорез, ПЦР, секвенирование ДНК) и биоинформатические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

определен видовой состав микобиоты образцов пораженных растений нута, маша, фасоли, чечевицы, сои а также почвенной микобиоты в некоторых регионах Узбекистана;

впервые из пораженных растений в посевах бобовых культур республики выделены и идентифицированы новые штаммы грибов видов *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae*;

впервые в Узбекистане определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена *tef-1a* и ITS региона видов грибов *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae*;

с использованием метода Хилла и др. определены патогенные свойства штаммов, идентифицированных морфологическими и молекулярно-генетическими методами;

создана коллекция моноспоровых культур идентифицированных штаммов грибов, поражающих бобовые культуры и оптимизированы условия их длительного хранения в коллекции.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

Генофонд коллекции Уникального научного объекта Института генетики и экспериментальной биологии растений «Коллекция фитопатогенных и других микроорганизмов» пополнен 22 штаммами, относящимися к 19 видам и 10 родам, а также создана электронная база данных;

разработаны методы оптимизации длительного хранения в коллекции чистых культур выделенных штаммов фитопатогенных грибов;

внедрена молекулярно-генетическая диагностика возбудителей таких грибных заболеваний бобовых культур, как фузариозное увядание, корневая

гниль, гниль корневой шейки, бурая пятнистость листьев и стеблей и увядания бобовых плодов в фермерские хозяйства республики, а также представлены рекомендации по механизму севооборота для борьбы с этими болезнями.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что анализы проводились современными молекулярно-биологическими и микробиологическими взаимодополняющими методами. Научные результаты были проанализированы с использованием современного биоинформатического программного обеспечения SnapGene, MEGA11. Результаты секвенирования сравнивались с базой данных GeneBank NCBI с помощью программы BLAST и были депонированы в данную базу данных. Все научные результаты регулярно публиковались в рецензируемых научных журналах на основании заключений экспертной комиссии Института генетики и экспериментальной биологии растений, а также они обсуждались на республиканских и международных конференциях.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследований заключается в том, что определен видовой состав фитопатогенных грибов вызывающих болезни бобовых культур в нашей республике, и впервые в условиях Узбекистана из пораженных растений бобовых культур выявлены штаммы следующих видов грибов: *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae*, на основании их морфологических, молекулярно-генетических и патогенных свойств.

Практическая значимость результатов исследований заключается в обогащении коллекции штаммами новых для страны видов грибов, в диагностике таких болезней как фузариоз, антракноз, альтернариоз на растениях маша, фасоли и нута, определении видового состава возбудителей данных заболеваний и их специфических патогенных свойств на основании экспериментов, проведенных в фермерских хозяйствах, разработке и проведении своевременных мер по борьбе с данными грибными болезнями на основе видоидентификации с помощью ДНК анализа.

Внедрение результатов исследований. На основании полученных результатов по идентификации микобиоты бобовых культур и фитопатогенных видов, а также в процессе оптимизации хранения культур в коллекции было внедрено следующее:

Штаммы грибов вызывающих болезни таких бобовых культур как нут, соя, маш, фасоль в республике: *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium persicinum*, *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alstroemeriae*, *Macrophomina phaseolina*, депонированы в международной базе данных GEPV WDCM Национальной коллекции микроорганизмов (World Data Center for Microorganism (WDCM) Collection of plant pathogenic and other microorganisms) под №1228 (<https://ccinfo.wdcm.org/results?kwd=1228>) (справка № 4/1255-2216 Академии наук Республики Узбекистан от 9 сентября 2022 г.). В результате, эти данные позволили исследовать в

глобальном масштабе виды *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*, распространенные в разных регионах мира;

Результаты, полученные по секвенированию ДНК видов, вызывающих болезни таких бобовых культур как нут, соя, маш, фасоль основанные на фрагменте гена *tef-1a* 8 штаммов: *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 и ITS региона *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 включены в базу данных NCBI (Национальный информационный центр биотехнологии США), Национальный нуклеотидный архив Европы EMBL-EBI (Великобритания, Кембридж) и базу данных ДНК (DDBJ) под номерами OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774, OQ073449, OQ073450 (справка № 4/1255-548 Академии наук Республики Узбекистан от 16 марта 2023 г.), В результате создана возможность определения видопецифичности штаммов грибов рода *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*, поражающих растения бобовых культур на территории Узбекистана, а также сравнения нуклеотидных последовательностей данных штаммов со штаммами, встречающимися на разных континентах мира.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 9, в том числе, 2-х международных и 7 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 6 научных статей, в том числе 4 в республиканских и 1 в зарубежном журнале и 1 монография, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 118 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность, востребованность диссертационной работы, приведена степень изученности проблемы, освещены материалы и методика исследований, а также сформулированы объект и предмет исследований, показано соответствие приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, изложены цель и задачи, научная новизна и практические результаты исследований, раскрыты теоретическая и практическая значимость результатов, приведены сведения о внедрении в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации на тему «**Микобиота бобовых культур, видовая идентификация фитопатогенных грибов и оптимизация условий их хранения в коллекции**» приведены обзор научных исследований посвященных гнилям и гибели проростков бобовых культур,

корневые гнили, видам рода *Pythium*, видам рода *Fusarium*, болезням бобовых культур, вызываемым другими видами грибов, фузариозам бобовых культур, вызываемым представителями рода *Fusarium*, фузариозным увяданием фасоли, нута, маша, чечевицы, сои, аскохитозам бобовых культур, вызываемым представителями рода *Ascochyta*, аскохитоз нута, аскохитоз чечевицы, корневой сухой или угольной гниле бобовых культур, хранению культур фитопатогенных видов грибов в коллекции. Критический анализ результатов множества опубликованных научных работ дал возможность сформулировать основную цель и задачи данных исследований.

Во второй главе диссертации **«Идентификация фитопатогенных видов грибов бобовых культур и методы исследования использованные при проведении молекулярно-биологических исследований»** подробно описывается объект, а также материалы и методы исследования. Методы исследования включают сбор образцов пораженных растений бобовых культур из некоторых регионов республики и выделение чистых культур грибов, подбор оптимальных условий культивирования грибов и определение оптимальных параметров, морфологических и культуральных признаков моноспоровых культур грибов и видовую идентификацию, метод видовой идентификации с использованием молекулярно-генетических методов, оптимизацию хранения моноспоровых культур в коллекции, очистку ПЦР продуктов и спектрофотометрическое (Nanodrop) измерение их концентрации, секвенирование ДНК по методу Сэнгера, метод очистки продуктов реакции секвенирования ДНК, анализ результатов секвенирования ДНК и их сравнения с базой данных NCBI с помощью биоинформатических программ.

В третьей главе диссертации на тему **«Фитопатогенные микромицеты бобовых растений в некоторых регионах Узбекистана и уровни их распространения»** проведено микологическое исследование пораженных растений бобовых культур в некоторых регионах республики а также микологическое исследование их почв, пробоподготовка образцов пораженных органов растений и почвы, выделение, очистка и выделение моноспоровых штаммов фитопатогенных грибов, идентификация выделенных штаммов грибов на основе морфологических и культуральных признаков, а также молекулярно-генетическая идентификация выделенных штаммов грибов.

Фитосанитарное обследование полей проводилось в Андижанской, Джизакской, Сырдарьинской, Ташкентской областях и республики Каракалпакистан, где были высажены бобовые культуры.

Установлено, что органы растений имели симптомы поражения грибными болезнями: корневая гниль, гниль корневой шейки, утончение прикорневой зоны стебля (образование перетяжки), побурение прикорневой зоны стебля, отмирание главного корня, пятнистость листьев, наблюдались трахеомикозные увядания растений, которые носили очаговый характер, при этом при разрезе стебля сосуды растений приобретали желтую или бурую окраску.

Установлена видовая принадлежность штаммов грибов, выделенных из пораженных растений на основании изучения морфологии колоний на плотных питательных средах, микроскопического строения мицелия и макроконидий и микроконидий.

В результате микологического исследования пораженных бобовых растений, отобранных при фитосанитарном обследовании полей, выделено 90 штаммов сапротрофных и фитопатогенных грибов, принадлежащих к 25 видам и 10 родам: *F. culmorum* -7 %, *F. acuminatum*-3%, *F. oxysporum*-8%, *F. brachygibbosum*-5%, *F. persicinum*-4%, *A. alternata*-4%, *F. solani*-9%, *Macrophomina phaseolina*-3%, *Ascochyta rabie*-4%, *Alternaria alstroemeriae*-3% *Aspergillus niger*-4%, *Alternaria sp.*-6%, *Fusarium spp.*-7%, *Mucor sp.* -2%, *Penicillium sp.* -3%, *Cercospora kikuchii*-2%, *Colletotrichum truncatum*-2%, *F. globosum* - 5%, *Botrytis cinerea* - 2%, *Sclerotinia sclerotiorum* – 3%, *Phomopsis sojae* - 3%, *F. heterosporum* - 3%, *A. tenuissima*-3 %, *Trichothecium roseum*-3%, *Rhizoctonia solani*-3% (рис. 1).

Из них 19 видов из 7 родов являются фитопатогенными микромицетами, поражающими бобовые культуры.

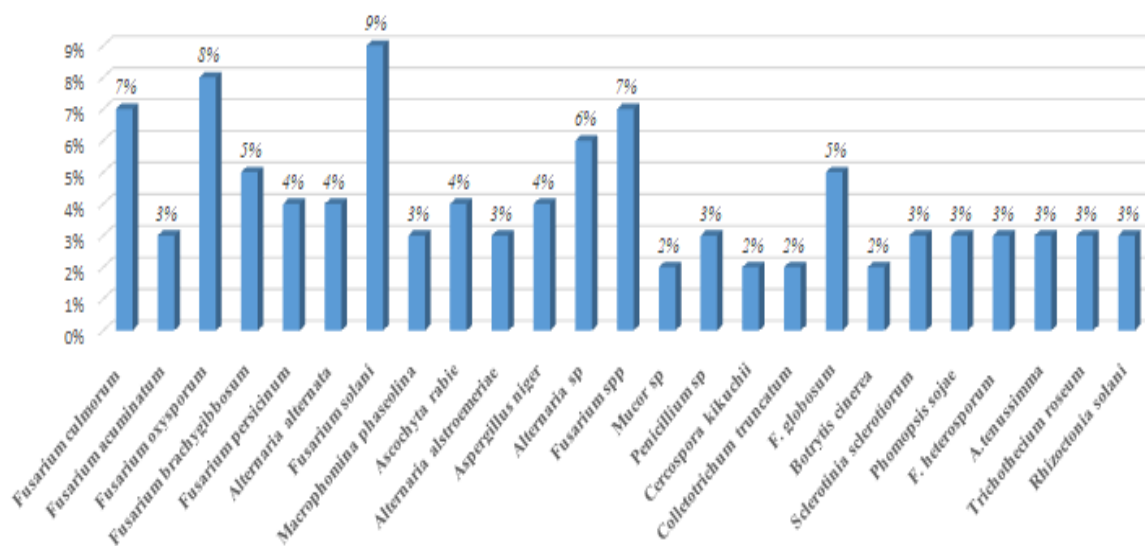


Рис.1. Видовой состав грибов, выделенных из образцов больных растений посевов бобовых культур в Андижанской, Джизакской, Сырдарьинской, Ташкентской областях и республике Каракалпакистан.

Установлено, что доминирующими в комплексе выделенных грибов из пораженных растений бобовых культур являются микромицеты видов рода *Fusarium*, их доля составляла 51%. Вторыми по частоте выделения оказались виды грибов рода *Alternaria*, обнаруженные в 16% случаев. Остальные микромицетиты (*Ascochyta rabie*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus niger*, *Trichothecium roseum*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis sojae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum truncatum*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*) встречались реже – от 2 до 4%(рис 2-4).



Рис.2. *Macrophomina phasolina* (питательная среда КДА)

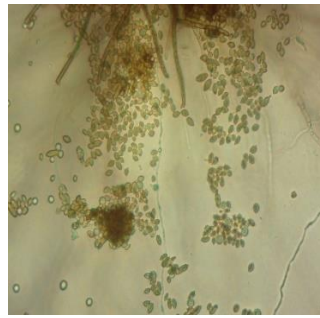


Рис.3. Габитус споруляции (питательная среда КДА) увеличение в (40x10) раз



Рис.4. конидии (питательная среда КДА), увеличение в (100x10) раз

Проведено микологическое исследование образцов почв полей, где возделывались бобовые культуры в Андижанской, Джизакской, Сырдарьинской, Ташкентской областях и республике Каракалпакистан.

В результате микологического исследования почв выделено 70 штаммов сапротрофных и фитопатогенных грибов принадлежащим к 19 видам и 9 родам: *F. oxysporum*-8%, *A.alternata* -5%, *F. solani*-10 %, *Aspergillus niger*-6%, *Alternaria* spp.-7%, *Fusarium* spp.-9%, *F.brachygibbosum*-6%, *F. acuminatum*-4%, *F.persicinum*-5%, *Penicillium* sp.-3%, *Colletotrichum truncatum*-3% *F. globosum*-5%, *F. culmorum*-8%, *Botrytis cinerea*-3%, *Sclerotinia sclerotiorum*-3%, *F. heterosporum*-2%, *Rhizoctonia solani*-4%, *Phomopsis* spp.-2%, *Trichoderma* spp. -7% (рис. 5).

В результате проведения микологических исследований установлено, что доминирующими в видовом составе почвенных грибов являются микромицеты рода *Fusarium* spp., их доля составляла 57%. Вторыми по частоте встречаемости являлись грибы рода *Alternaria*, обнаруженные в 12% случаев. Грибы рода *Trichoderma* обнаружены в 7% случаев, Остальные микромицетиты (*Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Colletotrichum truncatum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phomopsis* spp.) встречались реже – от 2 до 6%.

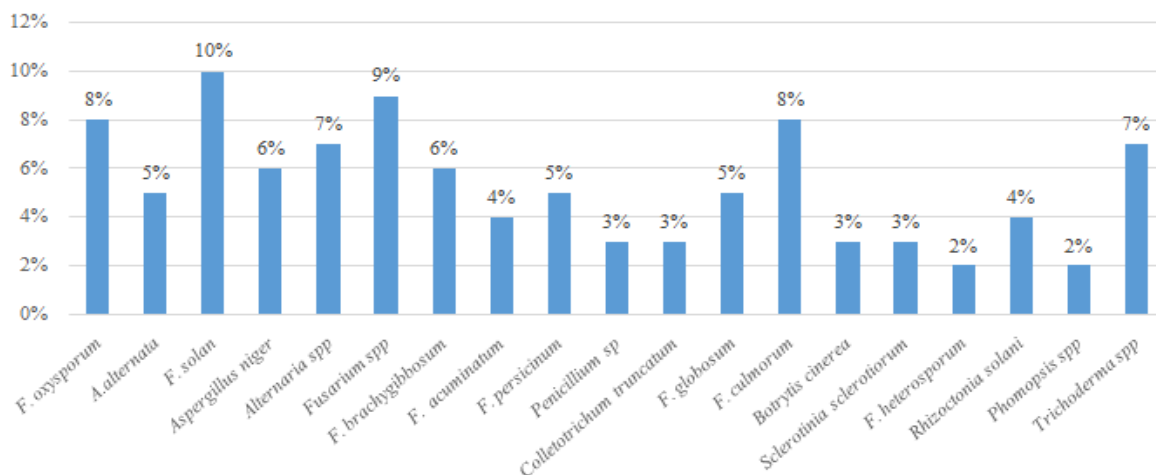


Рис.5. Видовой состав грибов, выделенных из образцов почв полей, где возделывались бобовые культуры в Андижанской, Джизакской, Сырдарьинской, Ташкентской областях и республике Каракалпакистан

Для уточнения таксономической принадлежности 8 штаммов фитопатогенных грибов *F. acuminatum*, *F. camptoceras*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *A. alternata*, *Diaporthe phaseolorum*, выделенных из пораженных растений бобовых культур, проведена молекулярно-генетическая идентификация. Была выделена геномная ДНК данных грибов и проведена ПЦР. В результате ПЦР были получены фрагменты ожидаемого размера для двух исследованных маркеров: фрагмента гена *tef-1α* (717 п.н.) и ITS (600 п.н.) региона. В ходе последующего секвенирования с использованием, прямого и обратного праймера определена нуклеотидная последовательность амплифицированных фрагментов гена *tef-1α* и ITS региона. Анализ данных нуклеотидных последовательностей с референтными нуклеотидными последовательностями международной базы данных GenBank NCBI позволил идентифицировать 7 видов грибов (*F. acuminatum*, *F. persicinum*, *F. brachygibbosum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *A. alstromeriae*, *Macrophomina phaseolina*), относящихся к 3 родам: *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* (табл.2).

Таблица 2

Сравнительный анализ видовой идентификации штаммов фитопатогенных грибов по морфологическим признакам и молекулярно-генетическим методом

№	Область, где были выделены грибы	Виды идентифицированные по морфологическим признакам	Виды идентифицированные по молекулярно-генетическим методом
1	Жиззак	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. acuminatum</i> * R-23
2	Сырдарья	<i>F. camptoceras</i>	<i>F. persicinum</i> * R-37
3	Ташкент	<i>F. culmorum</i>	<i>F. brachygibbosum</i> * R-29
4	Фергана	<i>F. equiseti</i>	<i>F. equiseti</i> * R-25
5	Каракалпакистан	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> * R-22
6	Хорезм	<i>F. acuminatum</i>	<i>F. acuminatum</i> * R-24
7	Андижан	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria alstromeriae</i> ** R-21
8	Ташкент	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i> ** R-17


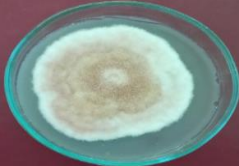
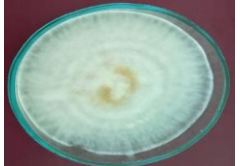
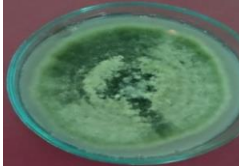








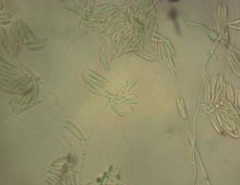

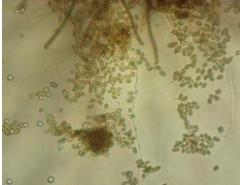
Примечание: *tef-1α* ген * ITS регион **

Совпадение результатов культурально-морфологической и молекулярно-генетической идентификации видовой принадлежности грибов составило 50%.

Четыре из 8 штаммов, морфологически определённых как *F. camptoceras*, *F. culmorum*, *A. alternata*, *Diaporthe phaseolorum* по результатам секвенирования, оказались видами *F. persicinum*, *F. brachygibbosum*, *A. alstromeriae*, *Macrophomina phaseolina*, соответственно. BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента *tef-1α* гена штамма *F. brachygibbosum* R-29 показал 99.84% сходство с последовательностью фрагмента гена *tef-1α* изолята CPBf4 *Fusarium brachygibbosum* (Индия).

Таблица 1

Основные макро- и микроморфологические характеристики и молекулярно-генетические маркеры видового разнообразия грибных возбудителей бобовых растений

Морфологические признаки	<i>F.persicinum</i>	<i>F.acuminatum</i>	<i>F.brachygibbosum</i>	<i>Alternaria alstroemeriae</i>	<i>Macrophomina phasolina</i>
макроморфологическая структура					
Габитус споруляции					
Конидии					
Строение конидий	нитевидная-полуокруглаяпрямой или частично изогнутый	Продолговатый остроконечный	Изогнуто-овальная	обратнобулавовидная, яйцевидная или эллипсоидальная с верхним концом конидии вытянутым в длинный «носик»	Овальный склероций
Размеры конидий мкм	23-40 × 5-7 мкм × 9.8 × 3.5 мкм	21.95 × 37.84 мкм × 2.99 3.29 мкм	19.7 × 3.5 мкм × 10.7 × 3.2 мкм	29.8 × 6.6 мкм 10.7 × 1.2 мкм	микросклероций 50-70 мкм диаметр (60-200 мкм)
цвет	от кремового до оранжевого и бело-желтого	желтый или рубиново-красный	белый, красноватый	зеленый, темно-серый, темно-оливковый, черный	Коричневый с черными точками
Секвенированный ген или регион	<i>tef- 1a</i>	<i>tef- 1a</i>	<i>tef- 1a</i>	ITS	ITS
ID код сиквенса депонированного в базу данных NCBI	OP716773	OP716770	OP716772	OQ073449	OQ073450

BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента *tef-1a* гена штамма *F.persicinum* R-37 показал 99.83% сходство с соответствующей последовательностью штамма CBS 479.83 *Fusarium persicinum* (Нидерланды). BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента ITS региона штамма *Macrophomina phaseolina* R-17 показал 100% сходство с соответствующей последовательностью изолята 84-13 *Macrophomina phaseolina* (Сербия). BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента ITS региона штамма *Alternaria alstroemeriae* R-21 показал 100% сходство с соответствующей последовательностью штамма XZC-5 *Alternaria alstroemeriae* (Китай). BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента *tef-1a* гена штамма *Fusarium acuminatum* R-23 показал 100% сходство с соответствующей последовательностью изолята A49 *Fusarium acuminatum* (Иран). BLAST анализ нуклеотидной последовательности фрагмента *tef-1a* гена штамма *F. equiseti* R-25 показал 80.59 % сходство с соответствующей последовательностью штамма АФВ4 *Fusarium equiseti* (США).

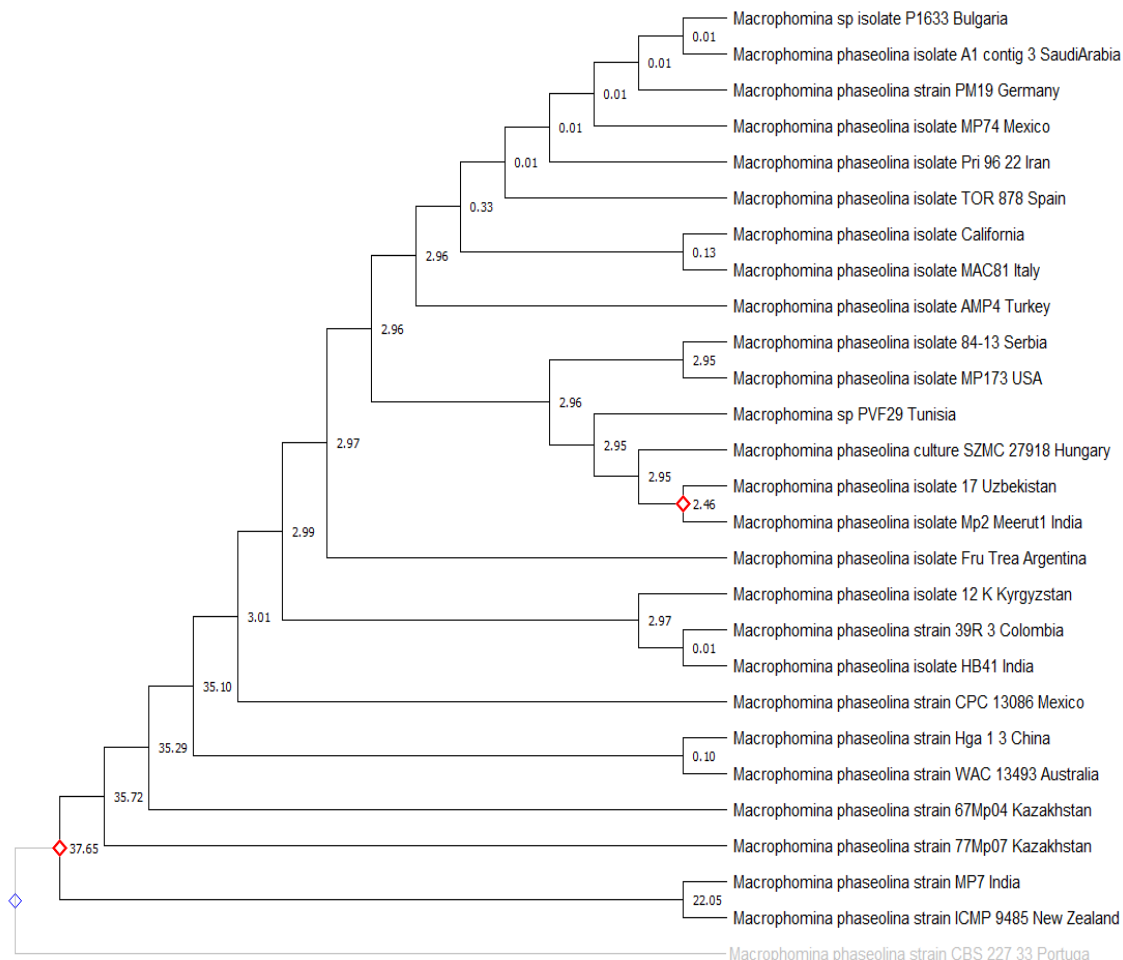


Рис.6. Внутривидовая молекулярная филогения, основанная на биоинформатическом анализе ITS региона штамма *Macrophomina phaseolina* R-17

Молекулярно-генетическим методом выявлены 8 штаммов, патогенных для бобовых культур. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена *tef-*

1а штаммов *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 и нуклеотидные последовательности ITS региона штаммов *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 зарегистрированы в международной базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/?term=>) под идентификационными номерами OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774, OQ073449, OQ073450. OQ073449, OQ073450 Разработана внутривидовая молекулярная филогения штаммов (рис 6). *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 выделенных из пораженных растений бобовых культур, возделываемых в фермерских хозяйствах различных регионов Узбекистана на основе фрагмента гена *tef-1α*, а также штаммов фитопатогенных микромицетов *Macrophomina phaseolina* R-17 и *Alternaria alstroemeriae* R-21 на основе ITS региона, со штаммами из других регионов мира, депонированных в базе данных NCBI (таб 1).

В четвертой главе диссертации «Скрининг характеристик патогенности фитопатогенных микромицетов, выделенных из бобовых растений, и оптимизация хранения их культур в коллекции» представлены результаты *in vitro* исследования патогенных свойств изолятов грибов, выделенных с растений бобовых культур, по методу Хилла и др., а также подготовки их моноспоровых культур к хранению в коллекции и оптимизации длительного хранения данных культур в коллекции.

Проведенные эксперименты по скринингу патогенных свойств (по методу Хилла и др.) 37 штаммов 19 видов фитопатогенных грибов, относящихся к 10 родам, выделенных из больных растений бобовых культур различных регионов Республики (таб 3).

В результате искусственной инокуляции растений нута, маша, фасоли и сои выделенными изолятами грибов, было показано, что изоляты грибов № 3, 7, 8, 9, 10, 19, 22, 15, и 30 принадлежащие к роду *Fusarium*, а также изоляты *Alternaria tenuissima* № 16 и штамм *Alternaria alternata* № 1 проявляют патогенные свойства ко всем данным видам бобовых культур, то есть они обладают широкой специализацией к растениям. Изоляты грибов № 23, 25 и 29 *Ascochyta rabiei* показали очень узкую специализацию к растению-хозяину – они поражали только растения нута. Изоляты грибов № 6, 12, 16, 21 и 33, принадлежащие к роду *Alternaria*, поражали проростки маша и сои, то есть проявляли определённую степень специализации. Кроме того, было обнаружено, что штаммы *Fusarium globosum* -30, *Cladosporium oxysporium*-28, *Trichothecium roseum*-36 и *Diaporthe phaseolorum*-37 поражали проростки нута, сои и маша.

Поражение растений нута штаммами № 23, 25, 29 *Ascochyta rabiei* оценивали в 3 балла - сильное потемнение эпикотилия или корней. Повреждения, наносимые штаммами № 23, 25, 29 *Ascochyta rabiei* на растениях сои, маша и фасоли, оценивали в 1 балл - незначительное потемнение эпикотилия или корней.

Фитопатологическое поражение, вызванное штаммом *Alternaria alternata* № 12 на проростках, оценивали в 3 балла - среднее потемнение эпикотилиа или корней. Штаммы № 2, 4 *F. oxysporium* оценивали баллом 0 - отсутствие болезней у проростков.

Был проведен сравнительный анализ финансовых расходов на питательные среды двух методик длительного хранения штаммов фитопатогенных грибов в коллекции: 1) Метод хранения культур под вазелиновым маслом при +5С. 2) при хранении в мини 1,5 мл пробирках Эппендорф при температуре при +5С. 3) В стеклянных биологических пробирках с ватно – марлевыми пробками на косяках агаровой среды при +5С. 4) при хранении во флаконах с питательной средой с силиконовыми пробками при +5С.

Таблица 3

Грибные болезни бобовых культур и виды их возбудителей

Название растения	Название болезни	Название патогена, вызывающего болезнь	Пораженные органы растений
Нут, соя, маш	Альтернариоз	<i>A. alternata, A. alstroemeriae</i>	листья, бобы, семена
Фасоль	Антракноз	<i>Colletotrichum truncatum</i>	Проросток, стебель, бобы
Соя, маш	Белая гниль (склеротиниоз)	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Проросток, стебель, листья, бобы, семена
Маш, фасоль	Серая гниль	<i>Botrytis cinerea</i>	Проросток, стебель, семена
Фасоль, маш, соя	Ожог стебля и бобов	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Проросток, листья, бобы, семена
Соя	пурпурный церкоспороз	<i>Cercospora kikuchii</i>	Проросток, листья, бобы, семена
Фасоль	Рак стебля	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	Проросток, стебель, листья, бобы
Нут	аскохитоз	<i>Ascochyta rabiei</i>	Проросток, стебель, листья, бобы
Нут, маш, фасоль, чечевица, соя	Фузариозное увядание, трахеомикоз	<i>F. oxysporum, Fusarium acuminatum F. brachygibbosum</i>	Стебель, корень, бобы, семена
Нут, маш, фасоль, чечевица, соя	Фузариозная гниль	<i>F. persicinum, F. solani F. sambucinum F. culmorum F. heterosporum</i>	Стебель, корень, семена, проросток

При первом методе анализ экономической эффективности из расчета расхода агар-агар показал, что при приготовления 1 л питательной среды необходимо 20 грамм агара, при этом в каждую биологических пробирках заливается по 10 грамм питательной среды, следовательно получается 100 пробирок с питательной средой. При втором методе анализ экономической эффективности из расчета расхода агар-агар показал, что при разливе приготовленной 1 л питательной среды по 0,65 мл в мини-пробирки Эппендорф получается 1538 пробирок. Таким образом метод хранения в пробирках Эппендорф в 15,38 раза превосходил по экономической

эффективности метод хранения под вазелиновым маслом, и при этом продолжительность хранения культуры в коллекции увеличилась с 24 до 60 месяцев.

Также был проведен сравнительный анализ финансовых расходов на питательные среды в стеклянных биологических пробирках с ватно – марлевыми пробками на косяках агаровой среды с методикой хранения во флаконах. При третьем методе анализ экономической эффективности из расчета расхода агар-агар показал, что при приготовления 1 л питательной среды необходимо 20 грамм агара, при этом в каждую большую пробирку заливается по 20 грамм питательной среды, следовательно получается 50 пробирок.

При четвертом методе анализ экономической эффективности из расчета расхода агар-агар показал, что при разливе приготовленного 1 л питательной среды по 3,5 мл в флаконы с питательной средой с силиконовыми пробками и в итоге получается 285 пробирок. Таким образом метод хранения во флаконах с питательной средой с силиконовыми пробками в 5,7 раза превосходил по экономической эффективности метод хранения в стеклянных биологических пробирках с ватно – марлевыми пробками на косяках агаровой среды. Отмечено, что срок хранения культур в коллекции составлял до 6 мес в большой биологических пробирках, а срок хранения культур во флаконах - до 12 мес.

ВЫВОДЫ

1. Впервые в Узбекистане из некоторых представителей семейства *Fabaceae* выделены штаммы фитопатогенных грибов *F. acuminatum*, *F. brachygibbosum*, *F. persicinum*, *A. alstromiriae*, *Macrophomina phaseolina*.

2. В результате микологических исследований с целью определения микобиоты бобовых культур и идентификации фитопатогенных видов грибов из пораженных бобовых культур из различных регионов республики было выделено 90 штаммов сапротрофных и фитопатогенных грибов, принадлежащих 25 видам и 10 родам. Среди них 19 видов, принадлежащих 7 родов являются фитопатогенными. Из почв выделено 70 штаммов сапротрофных и фитопатогенных грибов, принадлежащих 19 видам и 9 родам, из них фитопатогенные грибы составляют 14 видов, принадлежащих 5 родам.

3. 8 штаммов грибов, поражающих бобовые культуры молекулярно-генетически идентифицированы и внесены в базу данных данных NCBI. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена *tef-1a* штаммов грибов *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 а также нуклеотидные последовательности ITS региона штаммов *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 депонированы в международной базе данных GenBank NCBI под идентификационными номерами OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774. OQ073449, OQ073450

4. На основе биоинформатического анализа фрагмента гена *tef-1a* построена внутривидовая молекулярно-генетическая филогения штаммов фитопатогенных грибов *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R-37, *F. brachygibbosum* R-29 со штаммами из других стран. На основании биоинформатического анализа ITS региона построена молекулярно-генетическая филогения штаммов *Macrophomina phaseolina* R-17 и *Alternaria alstroemeriae* R-21, выделенных из пораженных растений бобовых культур, возделываемых в фермерских хозяйствах различных регионов республики.

5. Впервые в Узбекистане с помощью метода Хилла и др. были установлены патогенные свойства штаммов грибов, выделенных из пораженных растений бобовых культур различных регионов республики. В итоге доказано, что штаммы *Fusarium culmorum*-15, *Fusarium solani*-22, *Ascochyta rabie*-25, *Cercospora kikuchi*-35, *Trichothecium roseum*-36, *Alternaria tenuissima*-21 и *Phomopsis sojae*-37 являются возбудителями корневых гнилей и болезней проростков у таких представителей семейства *Fabaceae* как нут, маш и соя. Данные штаммы рекомендуются использовать для скрининга устойчивости к грибным болезням сортов, линий и гибридов бобовых культур и создания новых сортов устойчивых к данным грибным заболеваниям.

6. На основании экспериментов, проведенных в фермерских хозяйствах Республики Каракалпакстан, по выявлению фузариозов, антракнозов и альтернариозов маша и фасоли изучен видовой состав фитопатогенных грибов, их морфологические характеристики, разработаны мероприятия по борьбе с этими болезнями, а также применен ДНК анализ для видовой идентификации, что позволило своевременно применить меры по борьбе с этими болезнями и рекомендовать для практики севооборот с другими сельскохозяйственными культурами.

7. Создана коллекция фитопатогенных грибов, поражающих бобовые культуры из различных регионов Республики Узбекистан, данная коллекция имеет большой потенциал в плане обеспечения проведения фитопатологических, генетических, иммунологических, токсикологических и других, в том числе фундаментальных исследований, с целью разработки современных методов мониторинга заболеваний растений и их контроля, тестирование генов устойчивости растений в исходном селекционном материале.

**SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC DEGREE
DSc.02/30.12.2019.B.38.01 AT INSTITUTE OF MICROBIOLOGY
INSTITUTE GENETICS AND PLANT EXPERIMENTAL BIOLOGY**

RUZMETOV DILSHOD RUSTAM UGLI

**MYCOBIOTA OF LEGUMINOUS CROPS, SPECIES IDENTIFICATION
OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI AND OPTIMIZATION OF THEIR
STORAGE CONDITIONS IN THE COLLECTION**

03.00.04 – Microbiology and virology

**DISSERTATION ABSTRACT FOR THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2023

Subject of this dissertation for a degree of Doctor of Philosophy (PhD) has been registered under № B2022.4.PhD/B802. by the Supreme Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation work was done at the Institute Genetics and Plant Experimental Biology.

The abstracts of dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.info-microbio@academy.uz) and on the information-educational portal "ZiyoNet" (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor: **Sherimbetov Anvar Gulmirzayevich**
Doctor of Philosophi on biology, senior researcher

Official opponents: **Khasanov Batyr Achilovich**
Doctor of sciences in biology, Professor

Kadirova Gulchexra Xakimovna
Doctor of biological sciences, senior researcher

Leading organization: **National University of Uzbekistan**

The defense of the dissertation will take place on «18» July 2023 in 10:00 at the meeting of the Scientific Council DSc.02/30.12.2019.B.38.01 at the Institute of Microbiology ASRUz (at the following address: 100128, Tashkent, A.Kadyri str. 7b, conference hall of the institute of Microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre at the institute of Microbiology under № __. (Address: 100128, Tashkent, A.Kadyri str. 7b, administration building of the Institute of Microbiology, floor 5, library. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, fax: (+99871) 241-92-71, e-mail: info-microbio@academy.uz).

The abstract of dissertation is distributed on: « 4 » 07 2023.

(Protocol at the register № « 4 » from « 4 » 07 2023.



Aripov Takhir
Chairman of the scientific council
awarding scientific degrees
D.B.Sc., Academician

Juraeva Rohila
Scientific secretary of the scientific council
awarding scientific degrees, PhD, senior researcher

Gulyamova Tashhan
Chairman of academic seminar under scientific council
awarding scientific degrees, D.B.Sc., Professor

The aim of the research work is morphological and molecular genetic identification of species of phytopathogenic fungi isolated from leguminous crops in some regions of the Republic of Uzbekistan, determination of their phylogeny, assessment of their pathogenic properties, creation of a collection of pure fungal cultures and optimization of long-term storage conditions in the collection.

The object of the research are phytopathogenic micromycetes belonging to the genera *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*, etc., isolated from diseased plants of leguminous crops grown in various regions of the Republic of Uzbekistan, as well as strains of phytopathogenic fungi isolated from the soils of these regions.

The scientific novelty of the research is as follows:

The species composition of the mycobiota of affected plants of chickpea, mung bean, beans, lentils, soybeans, as well as soil mycobiota in some regions of Uzbekistan was determined;

for the first time, new strains of fungi of the species *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae* were isolated and identified from the affected plants in the leguminous crops of the republic;

for the first time in Uzbekistan, the nucleotide sequences of the *tef-1a* gene fragment and the ITS region of fungal species *Fusarium persicinum*, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium acuminatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alstroemeriae* were determined;

using the Hill et al. method, the pathogenic properties of strains identified by morphological and molecular genetic methods were determined;

a collection of monospore cultures of identified strains of fungi that affect leguminous crops has been created.

Implementation of research results.

Based on the results obtained on the identification of mycobiota of leguminous crops and phytopathogenic species, as well as in the process of optimizing the storage conditions of cultures in the collection, the following was implemented:

Strains of fungi causing diseases of leguminous crops such as chickpeas, soybeans, mung beans and common beans in republic: *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium persicinum*, *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alstroemeriae*, *Macrophomina phaseolina*, were registered in the collection of the World Data Center for Microorganism (WDCM). "Collection of phytopathogenic and other microorganisms" is registered in the GEPB WDCM #1228 database (<https://ccinfo.wdcm.org/results?kwd=1228>) (Reference No. 4/1255-2216 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated September 9, 2022), which made it possible to use it globally in the study of *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina* species distributed in different regions of the world;

results obtained by sequencing fungal species, causing diseases of leguminous crops such as chickpeas, soybeans, mung beans and common beans, based on the *tef-1a* gene fragment of the fungal strains *F. oxysporum* R-22, *F. equiseti* R-25, *F. acuminatum* R-23, *F. acuminatum* R-24, *F. persicinum* R- 37, *F. brachygibbosum*

R-29 and ITS of the region *Macrophomina phaseolina* R-17, *Alternaria alstroemeriae* R-21 are deposited into the NCBI database (US National Biotechnology Information Center), the National Nucleotide Archive of Europe EMBL-EBI (UK, Cambridge) and the DNA Data Bank of Japan (DDBJ) under the numbers OP716769, OP716770, OP716771, OP716772, OP716773, OP716774, OQ073449, OQ073450. As a result, it was possible to determine the species specificity of fungal strains of the genus *Fusarium*, *Alternaria*, *Macrophomina*, affecting plants of leguminous crops in the territory of Uzbekistan, as well as to compare the nucleotide sequences of the data.

Structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, a list of references and applications. The volume of the thesis is 118 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I-бўлим (I-часть; I-part)

1. Рузметов Д.Р., Шеримбетов А.Г. Дуккакли ўсимликларининг айрим фитопатоген микомецитларининг идентификация қилиш ва бионазоратини ишлаб чиқишда *Trichoderma* замбуруғининг антагонистик хусусиятлари *in vitro* услубида аниқлаш// ЎЗМУ хабарномаси. Тошкент 2020. 152-157 бет, (03.00.00, № 9).

2. Рузметов Д.Р. Шеримбетов А.Г, Дуккакли ўсимликларда альтернариоз касаллиги мониторинги ва уларга бионазорат ишлаб чиқиш технологияси// ЎЗР ФА маърузалари. – Тошкент, 2020 – №2. –78-82 бет, (03.00.00, № 6).

3. Рузметов Д.Р., Шеримбетов А.Г. Суюний инфекция фон шароитида *Cicer arietinum* L ўсимлигида фузариоз касаллигига қарши курашда *Trichoderma harzianum* АН-8193 штаммининг таъсири// ЎЗМУ хабарномаси. Тошкент 2021 №-3 92-94 бет (03.00.00, № 9).

4. Sherimbetov A.G., B. Sh. Adilov, Z. N. Kadirova, T. X. Makhmudov, A. B. Mambetnazarov, D. R. Ruzmetov, U. X. Yuldashov, E. Y. Karimov. Molecular verification of species identity of some isolates of the genus *Fusarium* deposited in the phytopathogen collection in Uzbekistan // Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 21 (71&72):94-98 pp 2020 (№ 3. Scopus FI=0.24)

5. Рузметов Д.Р. *Fabaceae* оиласининг айрим ўсимликларда касаллик кўзғатувчи фитопатоген микромицетларининг идентификацияси ҳамда макро-микро морфологик хусусиятлари// ЎЗМУ хабарномаси. Тошкент 2022 №-3 137-141 бет, (03.00.00, № 9).

6. Шеримбетов А.Г., Рузметов Д.Р. Қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг касалликлари мониторинги ва идентификацияси// Монография Тошкент 2020. 120 бет.

II-бўлим (II-часть; II-part)

7. Рузметов Д.Р., Шеримбетов А.Г. Нўхатда фузариоз касалигини келтиб кўзғатувчи *Fusarium* турларига *Trichoderma harzianum* АН-8193 штаммига таъсирининг антагонистик хусусиятлари// Фан ва таълимни ривожлантиришда ёшларнинг ўрни Республика илмий амалий конференцияси Тошкент 2019 22 ноябрь, 126-128 бет.

8. Рузметов Д.Р. *Trichoderma harzianum* АН-8193 штаммининг морфологияси// Фан ва таълимни ривожлантиришда ёшларнинг ўрни Республика илмий амалий конференцияси Тошкент 2019 22 ноябрь, 128-129 бет.

9. Рузметов Д.Р. Dukkakli o'simliklarda kassallik keltirib chiqaruvchi fitopatogen mikromitsetlarga *Trichoderma zamburug'ning* ta'sir etish

mexanizmi// Генетика, Геномика ва Биотехнологиянинг замонавий муоммоллари Республика илмий-анжумани 12 август. 2020 йил. 256-257 бет.

10. Рузметов Д.Р., Шеримбетов А.Г. *Alternaria* туркуми турлари идентификацияси ва уларга бионазорат ишлаб чиқиш технологияси// Ғўза ва бошқа экинлар генофонди биохилма-хилликларини ўрганиш ривожлантириш сақлаш ва самарали фойдаланиш истиқболлари. Халқаро илмий анжумани 2020 йил 20-21 октябр, 106-107 бет.

11. Ruzmetov D.R., Sherimbetov A. G., Davranov K. D., Adilov B. Sh. Isolation and identification of phytopathogenic fungi infecting some leguminous plants in Uzbekistan// Материалы научной конференции «Наука, техника и развитие инновационных технологий» посвященной 30-летию юбилею независимости Туркменистана Ашгабат 12-13 июня 2021 г. 537-539 бет.

12. Рузметов Д.Р. *Glycine* L ўсимлигида фомопсис касаллигини чакирувчи фитопатоген замбуруғининг микро-макро морфологияси ва идентификацияси// Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси ёш олимлар ахборотномаси № 2 (4) 2022 йил. 130-133 бет.

13. Рузметов Д.Р. Isolation and identification of fungi phytopathogenic micromycetes causing diseases in some plants of the Fabaceae family in Uzbekistan// Материалы научной конференции “Наука, техника и инновационные технологии в период возрождения новой эпохи могущественного государства” Ашгабат 12-13 июня 2022 год. 255-257 бет.

14. Рузметов Д.Р. *Fabaceae* оиласига мансуб *Glycine* max L ўсимлигини касаллантирувчи фитопатоген микромицетлар идентификацияси//“Иқлим ўзгариши шароитида лалми майдонлар учун қурғоқчиликка чидамли экин навларини яратиш ва етиштириш агротехнологияси” Республика илмий-амалий анжумани 30 май 2022 йил. 345-347 бет.

15. Рузметов Д.Р. Суний инфекция фон шароитида зарарланган соя ўсимликларга *Trichoderma harzianum* АН-8193 штаммининг антоганистик фаоллиги//“Fan, ta’lim va amaliyot integratsiyasi: muamollar va innovatsion yechimlar” Respublika ilmiy-amaliy konferensiyasi 2022-yil 12 sentyabr. 58-60 бет.

Автореферат “Ўзбекистон биология журналы” тахририятида тахрирдан
ўтказилди.

Босишга рухсат этилди: 04.07.2023
Бичими: 60x84^{1/16} «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда босилди.
Шартли босма табағи 2,8. Адади 100. Буюртма: № 168
Тел: (99) 832 99 79; (99) 817 44 54
Гувоҳнома reestr № 10-3279
“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмаҳонасида чоп этилди.
Манзил: Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6 уй.