

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
ISTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI  
DSc.02/30.12.2019.B 53.01. RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
INSTITUTI**

**SHODMONOVA MUXLISA KOMILOVNA**

**PATOGEN ZAMBURUG‘LARGA QARSHI *BACILLUS* TURKUMIGA  
KIRUVCHI ANTAGONIST BAKTERIYALARNING MOLEKULAR  
GENETIK BIO XILMA-XILLIGINI ANIQLASH**

**03.00.03-Molekulyar biologiya, Molekulyar genetika, Molekulyar biotexnologiya**

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)  
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

**TOSHKENT – 2025**

**Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)**

**Shodmonova Muxlisa Komilovna**

Patogen zamburug‘larga qarshi *Bacillus* turkumiga kiruvchi antagonist bakteriyalarning molekulyar genetik bioxilma-xilligini aniqlash..... 3

**Шодмонова Мухлиса Комиловна**

Определение молекулярно-генетического биоразнообразия антагонистических бактерий рода *Bacillus* против патогенных грибов.....21

**Shodmonova Mukhlisa Komilovna**

Identification of the molecular genetic biodiversity of antagonistic *Bacillus* species against pathogenic fungi..... 41

**E‘lon qilingan ishlar ro‘yxati**

Список опубликованных работ

List of published works.....45

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI  
DSc.02/30.12.2019.B 53.01. RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**GENETIKA VA O‘SIMLIKLAR EKSPERIMENTAL BIOLOGIYASI  
INSTITUTI**

**SHODMONOVA MUXLISA KOMILOVNA**

**PATOGEN ZAMBURUG‘LARGA QARSHI *BACILLUS* TURKUMIGA  
KIRUVCHI ANTAGONIST BAKTERIYALARNING MOLEKULYAR  
GENETIK BIOXILMA-XILLIGINI ANIQLASH**

**03.00.03-Molekulyar biologiya, Molekulyar genetika, Molekulyar biotexnologiya**

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)  
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

**TOSHKENT – 2025**

**Biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2025.1.PhD/B1365 raqami bilan ro'yxatga olingan.**

Dissertatsiya ishi Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengashning veb-sahifasida ([www.genetika.uz](http://www.genetika.uz)) hamda «Ziyonet» Axborot-ta'lim portalida ([www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)) joylashtirilgan.

**Ilmiy rahbar:**

**Bozorov Tohir Ahmadovich**

biologiya fanlari doktori, yetakchi ilmiy xodim

**Rasmiy opponentlar:**

**Dolimova Dilbar Akbarovna**

biologiya fanlari doktori, professor

**Yakubov Iskandar Taxirovich**

biologiya fanlari nomzodi, dotsent

**Yetakchi tashkilot:**

**Mikrobiologiya instituti**

Dissertatsiya himoyasi Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti huzuridagi DSc.02/30.12.2019.B.53.01 raqamli Ilmiy kengashning 2025 yil «\_\_» \_\_\_\_\_ kuni soat \_\_\_dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 111208, Toshkent viloyati, Qibray tumani, Yuqori yuz 266-uy, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti majlislar zali. Tel.: (99871) 264-23-90, faks: (99871) 264-23-90, e-mail: [igebr@academy.uz](mailto:igebr@academy.uz), [igebr\\_anruz@mail.ru](mailto:igebr_anruz@mail.ru), [genetika@exat.uz](mailto:genetika@exat.uz) ).

Dissertatsiya bilan Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (\_\_\_\_\_ raqami bilan ro'yxatga olingan). (Manzil: 111208, Toshkent viloyati, Qibray tumani, Yuqori yuz 266-uy, Genetika va eksperimental biologiya instituti. Majlislar zali. Tel.: (99871) 264-23-90.

Dissertatsiya avtoreferati 2025 yil «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ kuni tarqatildi.

(2025 yil «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ dagi \_\_\_\_\_ raqamli reestr bayonnomasi).

**A.A. Narimanov**

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi, q/x.f.d., professor

**I.Dj. Kurbanbayev**

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash ilmiy kotibi, b.f.d., professor

**I.T.Qahhorov**

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash qoshidagi ilmiy seminar raisi, q/x.f.d., professor

## KIRISH (Falsafa doktori (PhD) dissertatsiya annotatsiyasi)

**Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyati.** Dunyo miqyosida o‘simlik bilan bog‘liq mikroorganizmlar, xususan bakteriyalarning genetik xilma-xilligi va molekulyar asoslarini o‘rganish zamonaviy mikrobiologiya, ekologiya va agrobiotexnologiyaning eng dolzarb ilmiy yo‘nalishlaridan biri hisoblanadi. Molekulyar-genetik tadqiqotlar bakteriyalarning genomik tarkibi, mutatsion o‘zgarishlari va funksional markerlarini aniqlash imkonini beradi. Ayniqsa, *Bacillus* avlodi (turkum) ga mansub antagonist bakteriyalarning mutatsion divergensiyasi va genetik markerlar asosida identifikatsiyasi ularning fitopatogenlarga qarshi faolligini aniqlashda ahamiyatga ega. Ushbu jarayonlarni o‘rganish biologik kurash vositalari va mikrobial preparatlar yaratish uchun ilmiy asos bo‘lib xizmat qiladi.

Jahonda ko‘plab olimlar tomonidan o‘simlik fitopatogenlariga qarshi kurashuvchi antagonist bakteriyalarni o‘rganish bo‘yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Bu borada *Bacillus* turkumiga mansub bakteriya turlarining tarqalishi, ularning tasnifi, muhitning biotik-abiotik stress sharoitlariga moslashishi, fitopatogen zamburug‘lardan himoya qilish mexanizmlarini o‘rganish, antagonist bakteriya turlarini molekulyar identifikatsiya qilish, antifungal ahamiyatga ega bakteriyalarni biokimyoviy faolligini baholash, bakteriyalarni uzoq muddatga saqlash usullarini optimizatsiya qilish, biologik kurash vositalarini ishlab chiqishda mikroorganizmlardan manba sifatida foydalanish bo‘yicha olib borilayotgan tadqiqot ishlari ayniqsa muhim ahamiyatga ega.

Respublikamizda qishloq xo‘jaligida o‘simliklar o‘sishini rag‘batlantiruvchi mikroorganizmlarni chuqur o‘rganish muhim ahamiyat kasb etib bormoqda. Xususan, O‘zbekiston Respublikasini qishloq xo‘jaligini yanada rivojlantirishning 2020-2030-yillarga mo‘ljallangan Harakatlar strategiyasida<sup>1</sup> “kasallik va zararkunandalarga chidamli, turli ekologik muhit sharoitlariga moslasha oladigan navlarni yaratish va oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligini ta‘minlash” bo‘yicha vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalarni amalga oshirishda, qishloq xo‘jaligi sohasida o‘simlik o‘sishini rag‘batlantiruvchi bakteriyalar (Plant Growth-Promoting Bacteria-PGPB) guruhini o‘rganish orqali biologik nazorat agentlaridan foydalanish muhim amaliy ahamiyat kasb etadi.

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 23 oktabrdagi PF-5853-son «O‘zbekiston Respublikasi qishloq xo‘jaligini rivojlantirishning 2020-2030 yillarga mo‘ljallangan strategiyasi to‘g‘risida»gi, hamda 2025-yil 30-yanvardagi PF-16-son “O‘zbekiston - 2030” strategiyasini “Atrof-muhitni asrash va “yashil iqtisodiyot” yilida amalga oshirishga oid davlat dasturi to‘g‘risida”gi farmoni hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me‘yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishda ushbu biologiya bo‘yicha falsafa doktorlik darajasini olish uchun tayyorlangan dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

**Tadqiqotning Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi.** Tadqiqot respublika fan va texnologiyalarini rivojlantirishning ”Qishloq xo‘jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof-muhit muhofazasi” ustuvor yo‘nalishi doirasida bajarilgan. Chunki global ekologik

---

<sup>1</sup>O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 23-oktyabrdagi PF-5853-son “O‘zbekiston Respublikasi qishloq xo‘jaligini rivojlantirish bo‘yicha xarakteristik strategiyasi to‘g‘risida”gi Farmoni.

muammolar zamonida o‘simlik fitopatogenlariga qarshi kurashuvchi antagonist bakteriyalardan bionazorat sifatida foydalanish, qishloq xo‘jaligi, sanoat va ishlab chiqarish sohasidagi mavjud muammolarni yechimi sifatida tavsiya etiladi.

**Muommoning o‘rganilganlik darajasi.** Fitopatogen zamburug‘larga qarshi *Bacillus* turkumiga mansub antagonist bakteriyalarning molekulyar-genetik xilma-xilligi va biokimyoviy faolligini o‘rganish bo‘yicha jahon miqyosida keng ko‘lamli ilmiy tadqiqotlar olib borilgan. Xorijda (Kaplan D., 2013; Schwartz A. 2013; Geiser D., 2013; Khan N., 2017; Etesami H., 2023; Ayaz M., 2023), MDH mamlakatlarida (Sidlyarevich V.I., 2015; Khassenov B., 2020; Chebotar V.K., 2021) olimlari tomonidan olib borilgan tadqiqotlarda *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. va *Aspergillus* spp. kabi o‘simlik patogen zamburug‘lariga nisbatan antagonistik faolliги hamda ularning biologik nazorat vositasi sifatida qo‘llanish imkoniyatlari keng ko‘lamda o‘rganilgan. Ushbu tadqiqotlar bakteriyalarning fermentativ faolliги va patogenlarga qarshi ta’sir mexanizmlarini molekulyar darajada o‘rganishga qaratilgan.

Respublikamizda o‘simlik mikrobiotasi va tuproq bakteriyalarini o‘rganish bo‘yicha muhim tadqiqotlar olib borilgan. Qator tadqiqotchilar (Egamberdiyeva D., 2003; Shurigin V., 2020; Bozorov T., 2021; Davronov Q., 2022; Aytenov I., 2024; Setora Samadiy A., 2024) tomonidan o‘simlik va tuproq bakteriyalari, xususan *Bacillus* turkumi bakteriyalarida stressga chidamlilik xususiyatlari, antagonistlik qobiliyati chuqur tadqiq qilingan.

Ushbu ishlar O‘zbekiston sharoitida o‘simlik mikrobiotasining ekologik va funksional xususiyatlarini o‘rganishga yo‘naltirilgan bo‘lib, qishloq xo‘jaligi ekinlarini himoya qilishda bakteriyalarning ahamiyatini ko‘rsatadi.

Biroq, O‘zbekistonning turli agroekologik hududlari sharoitida *Bacillus* turkumiga mansub antagonist bakteriyalarning genetik xilma-xilligi, yagona nukleotid polimorfizmi (SNP) tahlili asosida tasniflanishi va ularning fitopatogen zamburug‘larga qarshi bionazorat vosita sifatida qo‘llanilishi bo‘yicha tadqiqotlar yetarli darajada olib borilmagan. Bu esa mazkur sohada chuqur ilmiy izlanishlarni amalga oshirish va mahalliy sharoitlarga mos bionazorat strategiyalarini ishlab chiqish zarurligini ko‘rsatadi.

**Dissertatsiya mavzusining dissertatsiya bajarilgan ilmiy-tadqiqot muassasasi ilmiy-tadqiqot ishlari bilan bog‘liqligi.** Dissertatsiya tadqiqoti Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi instituti ilmiy-tadqiqot ishlari rejasining “FZ-20200929166 O‘simliklar mikrobiotasidan patogen zamburug‘larga qarshi antagonist bakteriyalarni molekulyar aniqlash, ularning ekinlarni himoya qilishdagi o‘rnini tadbiq etish” fundamental loyiha asosida bajarilgan

**Tadqiqotning maqsadi.** O‘zbekistonning turli agroekologik hududlaridan olingan o‘simlik namunalarida *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning molekulyar-genetik xilma-xilligi va ularning fitopatogen zamburug‘larga qarshi antagonistlik xususiyatlarini aniqlash hamda qishloq xo‘jaligida bionazorat vositasi sifatida foydalanish imkoniyatlarini baholashdan iborat.

**Tadqiqotning vazifalari:**

O‘zbekistonning turli agroekologik hududlaridan olingan o‘simlik (ildiz, poya qismi) namunalaridan *Bacillus* turkumiga mansub bakteriya shtammlarini ajratib olish

va toza kulturalarni kolleksiyaga joylash;

bakterial shtammlardan yuqori sifatli DNK ajratish usullarining samaradorligini aniqlash, molekulyar identifikatsiyasi qilish;

*Bacillus* shtammlarining fitopatogen zamburug'lar (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp.) ga qarshi *in vitro* sharoitda antagonistlik xususiyatlarini sinovdan o'tkazish;

turli agroekologik hududlardagi bakteriya turlariga boy o'simlik turlarining taksonomik tahlil qilish;

bakteriyalarning genetik o'zgaruvchanligini o'rganish uchun yagona nukleotid polimorfizm tahlilini o'tkazish, filogenetik munosabatlarni aniqlash;

tanlangan shtammlarning morfologik, biokimyoviy va fermentativ xususiyatlarini aniqlash;

antagonist bakteriyalarni bug'doy, no'xat va g'oz o'simliklariga inokulyatsiya qilish, fitopatogen zamburug'larga qarshi himoya samaradorligini (sariq zang, fuzarioz, so'lish kasalliklari) baholash va *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarni qishloq xo'jaligida bionazorat vositasi sifatida qo'llash.

**Tadqiqotning obyekti** sifatida O'zbekistonning turli agroekologik hududlaridan olingan o'simlik (ildiz, poya) namunalaridan ajratilgan *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalar va qishloq xo'jaligi ekinlarini zararlovchi fitopatogen zamburug'lar olingan.

**Tadqiqotning predmeti** *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning genetik xilma-xilligi, 16S rRNK gen sekvensi, yagona nukleotid polimorfizmi (SNP), biologik faol birikmalar ishlab chiqarish xususiyatlari va fitopatogen zamburug'larga qarshi antagonistlik xususiyatlari hisoblanadi.

**Tadqiqotning usullari:** Dissertatsiya tadqiqotlarini bajarishda molekulyar genetikaning an'anaviy usullari, jumladan, genom DNK ajratish ( Fenol-xloroform, CTAB, liyzis, Teagen kit) usuli, PZR tahlili, gel elektroforez, Senger sekvens usuli, shuningdek mikrobiologik, fitopatologik va bioinformatik tahlil kabi usullardan foydalanilgan.

**Tadqiqotning ilmiy yangiligi** quyidagilardan iborat:

ilk bor *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarda 16S rRNK genining yagona nukleotid polimorfizmi (SNP) asosida chuqurlashtirilgan tahlil o'tkazilib, *B. velezensis*, *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii* va *B. stercoris* turlarida mutatsion o'zgaruvchanlik aniqlangan, hamda ushbu genetik diversifikatsiyaning geografik va ekologik omillar bilan bog'liqligi ilmiy jihatdan asoslab berilgan;

O'zbekistonning turli agroekologik hududlaridan olingan 3328 ta bakteriya izolyatlaridan 432 tasi yuqori antagonist faollikka ega ekani aniqlanib, 16S rRNK genini sekvenslash va SNP-profil tahlili natijasida 26 ta dan ortiq *Bacillus* turlarining taksonomiyasi aniqlangan;

o'simlik to'qimasidan ajratilgan bakteriyalar tarkibida *Bacillus* turkumi dominant guruh ekanligi va tur darajasida *B. safensis*, *B. atrophaeus* va *B. pumilus* eng ko'p uchraydigan turlar sifatida ajratib olingan;

*Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. kabi fitopatogen zamburug'larga qarshi *in vitro* sharoitda antagonistlik xususiyatlari tizimli ravishda o'rganilib, 432 ta shtammdan 225 ta *Rh.*

*solani*, 148 ta *F. culmorum*, 14 ta *Aspergillus* spp va boshqa patogenlarga qarshi yuqori ingibitsiya ko'rsatkichlari (60-80%) ga ega ekanligi aniqlangan;

16S rRNK geni asosida amalga oshirilgan filogenetik tahlil *Bacillus* turlarini uchta asosiy kladga ajratish imkonini berdi hamda *B. aerius*, *B. pseudomycooides* va *B. spizizenii* turlarining o'zaro yaqin evolyutsion filogeniyasi ishlab chiqilgan;

tadqiqot natijasida yuqori fermentativ faollikka ega izolyatlardan proteaza, sellulaza, lipaza, ksilanaza, glyukanaza va sellobiaza kabi sanoat ahamiyatiga ega fermentlarni ishlab chiqaruvchi shtammlar ajratib olingan;

biologik faolligi, molekulyar tavsifi va enzimatik xususiyatlari asosida tanlab olingan bakteriya shtammlari *B. inaquosorum*, *B. mojavensis*, *B. proteolyticus*, *B. safensis*, *B. halotolerans*, *B. atrophaeus* va *B. pumilus* istiqbolli bionazorat vositasi sifatida ta'sir ko'rsatishi isbotlangan;

tanlangan *Bacillus* avlodi bakteriyalarini bug'doy, no'xat va g'oz o'simliklariga inokulyatsiya qilish orqali sariq zang, fuzarioz va so'lish kasalliklariga qarshi 45-50% gacha chidamlilikni oshirish imkoniyati aniqlangan.

#### **Tadqiqotlarning amaliy natijalari** quyidagilardan iborat:

*Bacillus* turkumiga mansub bakteriya shtammlari (*B. velezensis* 27T16, *B. atrophaeus* 28R2, *B. altitudinis* 31.2R-23, *B. safensis* 29T-3 *B. proteolyticus* 70T-16) *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. va *Aspergillus* spp. kabi fitopatogen zamburug'larga qarshi 60-80% ingibitsiya samaradorligi bilan qishloq xo'jaligida kimyoviy pestitsidlarga muqobil sifatida foydalanish uchun istiqbolli bionazorat vositalari sifatida aniqlangan;

*B. mojavensis* 30r-36, *B. cereus* 27r-55, *B. cereus* 31,2R-9, *B. safensis* 66r-19, *B. halotolerans* 1r-42, *B. atrophaeus* 28r-41 va *B. pumilus* 4t-36 bakteriya shtammlarini bug'doy, no'xat va g'oz o'simliklariga inokulyatsiya qilish orqali sariq zang, fuzarioz kasalliklariga qarshi 45-50% gacha chidamlilikni oshirish imkoniyati isbotlanib, O'zbekiston sharoitida ekinlarni himoya qilishda samarali tur sifatida ajratib olingan;

biokimyoviy faolligi yuqori, faol birikma ishlab chiqaruvchi *B. altitudinis* 31r-35, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 44r-29, *B. safensis* 54t-10, 38t-20, 41r-18, 41r-28, 44t-26, *B. stercoris* 7r-9, *B. tequilensis* 38r-17 bakteriya shtammlari aniqlangan;

bakteriyalardan DNK ajratish uchun fenol:xlороform usuli iqtisodiy samaradorlik va sifat jihatidan eng maqbul ekanligi isbotlanib, O'zbekiston sharoitida molekulyar biologiya tadqiqotlari uchun optimallashtirilgan metodologiya ishlab chiqilgan.

**Tadqiqot natijalarining ishonchliligi** izlanishlarda qo'llanilgan zamonaviy, molekulyar-genetika, mikrobiologik, fitopatologik tadqiqot usullaridan foydalanilganligi, olingan ilmiy natijalar zamonaviy metodologik, statistik usullardan foydalanilgan holda SeqMan dasturi, MEGA12 bioinformatik dastur yordamida tahlil qilinganligi, molekulyar genetik identifikatsiya natijalari xalqaro NCBI GenBank ma'lumotlari bilan BLAST dasturi yordamida taqqoslanganligi hamda ilmiy yondashuvlar asosida olingan nazariy va amaliy natijalarning bir-biriga mos kelishi, tadqiqot natijalarining xorijiy va mahalliy tajribalar bilan solishtirilganligi, aniqlangan qonuniyatlar va xulosalar bilan asoslanganligi, ilmiy va amaliy tadqiqot natijalarining xalqaro va respublika ilmiy-amaliy anjumanlarda muhokama etilganligi hamda ilmiy nashrlarda chop qilinganligi bilan izohlanadi.

**Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.** Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati O‘zbekistonning turli agroekologik hududlarida o‘sovchi o‘simlik namunalardan ajratib olingan *Bacillus* shtammlarining yagona nukleotid polimorfizmlari, genetik xilma-xilligi, biokimyoviy faolligi aniqlanganligi va fitopatogen zamburug‘larga nisbatan antagonist faolligi baholanganligi, *B. safensis*, *B. atrophaeus* va *B. pumilus* kabi dominant turlarning tasniflanganligi, shuningdek, *B. velezensis*, *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii* va *B. stercoris* turlarida mutatsion o‘zgaruvchanlikning geografik va ekologik omillar bilan bog‘liqligi tasdiqlanganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati O‘zbekiston qishloq xo‘jaligi uchun fitopatogen zamburug‘larga qarshi antagonist xususiyatga ega, o‘simliklarni o‘sishini rag‘batlantiruvchi biofaol moddalar ishlab chiqaruvchi va turli stress muhitlarida o‘simlik o‘sishi uchun qulay yashash muhit yaratuvchi *Bacillus* turkumiga mansub bakteriya shtamm (*B. mojavensis* 30r-36, *B. cereus* 27r-55, *B. cereus* 31,2R-9, *B. safensis* 66r-19, *B. halotolerans* 1r-42, *B. atrophaeus* 28r-41 va *B. pumilus* 4t-36) lari ajratib olinganligi hamda molekulyar biologiya tadqiqotlari uchun samarador bionazorat vositasi sifatida tadqiq etilganligi bilan izohlanadi.

**Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi.** Patogen zamburug‘larga qarshi *Bacillus* turkumiga kiruvchi antagonist bakteriyalarning molekulyar genetik bioxilma-xillikni aniqlash bo‘yicha olingan natijalar asosida:

O‘zbekistonning turli agroekologik hududlaridan ajratib olingan *Bacillus* turkumiga mansub, fitopatogen zamburug‘larga qarshi antagonist xususiyatga ega - *Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus mobilis*, *Bacillus thuringiensis* bakteriya izolyatlarining sof kulturalari Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi institutining «Fitopatogen va boshqa mikroorganizmlar» noyob obyekti kolleksiyasi genofondiga topshirilgan (O‘zRFA 2025-yil 20-iyun, №4/1255-1521 son ma‘lumotnomasi). Natijada bakteriya shtammlari kolleksiya genofondini boyitish, bakteriya turlari xilma-xilligidan foydalanish imkonini bergan;

*Bacillus* turkumiga mansub bakteriya izolyatlari 16S rRNK geniga asoslangan tur sekvenslari bo‘yicha olingan natijalarga ko‘ra, bakteriya shtammlari xalqaro ma‘lumotlar bazalarida – NCBI (AQSh Milliy Biotexnologiya Axborot Markazi), EMBL-EBI (Yevropa Nukleotid Arxivi, Buyuk Britaniya, Kembridj) va DDBJ (Yaponiya DNK Ma‘lumotlar Bazasi) platformalarida PV653545, PV653526, PV653521, va PV653522 identifikatsiya raqamlari orqali ro‘yxatdan o‘tkazilgan (NCBI – AQSh Milliy Biotexnologiya Axborot Markazi, 19.05.2025-yilgi ma‘lumot; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/PV653545>). Ro‘yxatdan o‘tkazish natijasida xalqaro ma‘lumotlar bazasi boyitildi va *Bacillus* turlarini global miqyosda tadqiq etish imkoniyati yaratildi.

**Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi.** Mazkur tadqiqot natijalari 11 ta, jumladan 2 ta xalqaro, 9 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o‘tkazilgan.

**Tadqiqot natijalarining e‘lon qilinganligi.** Dissertatsiya mavzusi bo‘yicha jami 15 ta ilmiy ish nashr etilgan, shundan O‘zbekiston Respublikasi Oliy ta‘lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy Attestatsiya Komissiyasining doktorlik

dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 4 ta maqola, jumladan 2 ta respublika va 2 ta xorijiy jurnallarda nashr etilgan.

**Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi.** Dissertatsiya tarkibi kirish, to'rtta bob, xulosalar, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati, shartli belgilar va atamalar ro'yxati hamda ilovalardan iborat. Dissertatsiya hajmi 113 betni tashkil etadi.

## **DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI**

**Kirish** qismida olib borilgan tadqiqotning dolzarbligi va zarurati asoslangan, tadqiqotning maqsadi va vazifalari, ob'ekt va predmetlari tavsiflangan, ilmiy ishning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi ko'rsatilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari keltirib o'tilgan, olingan natijalarning ilmiy va amaliy ahamiyati bayon qilingan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilinishi, nashr qilingan ishlar va dissertatsiya tuzilishi haqida ma'lumotlar yoritilgan.

Dissertatsiyaning «**O'simlik mikroorganizmlarining genetik xilma-xilligi va ularning fitopatogenlarga qarshi kurash mexanizmlari**» deb nomlangan birinchi bobida *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning kelib chiqishi, 16S rRNK genini sekvenslash va SNP asosida filogenetik tahlillar asosida genetik xilma-xilligini aniqlash haqida bayon etilgan. Fitopatogen zamburug'lar rivojlanishiga ingiberlovchi ta'sir etuvchi antagonist xususiyatiga ega *Bacillus* turkumi bakteriyalar haqida ma'lumotlar keltirib o'tilgan. Shuningdek *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning bionazorat qilishdagi rolini tushinishda ularning biokimyoviy, molekulyar hamda fiziologik ta'sir mexanizmlarini o'rganishga doir ilmiy amaliy natijalar dunyo olimlarining tajribalari, ilmiy ishlari sharhi orqali keltirilgan. Dunyo olimlari tomonidan chop etilgan ko'plab maqolalarining tahlili mazkur ishning asosiy maqsadi va vazifalarining shakllanishida yordam beradi.

Dissertatsiyaning «**Tadqiqot o'tkazilgan sharoit, manbai va uslublari**» deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqot davomida foydalanilgan ob'ekt, material va tadqiqot usullari keng tavsiflangan. Tadqiqot usullarida asosan tadqiqotimiz uchun tanlab olingan o'simlik namunalaridan kultivirlanadigan bakteriyalarni ajratish va kolleksiyada saqlash, bakterial koloniyalarning ranglanishi va ularni rang intensivligi bo'yicha saralash, bakteriya shtammlaridan DNK ajratish usullarini optimallashtirish asosida DNK ajratish, PZR va gel-elektroforez usullari, shuningdek 16S rRNK genini sekvenslash asosida molekulyar identifikatsiyasi qilish, hamda fitopatologik va biokimyoviy tadqiqot usullaridan foydalangan holda tadqiqot ishlari olib borilgan. Olingan natijalarni bioinformatik dasturi orqali tahlil qilish va bakteriya namunalarini 16S rRNK genini sekvens natijalarini BLAST dasturi asosida NCBI ma'lumotlar bazasi bilan taqqoslash usullaridan foydalanilgan. Tadqiqotlar O'zR FA genitika va o'simliklar eksperimental instituti "Bioresurslar va stress biologiyasi" laboratoriyasida olib borilgan.

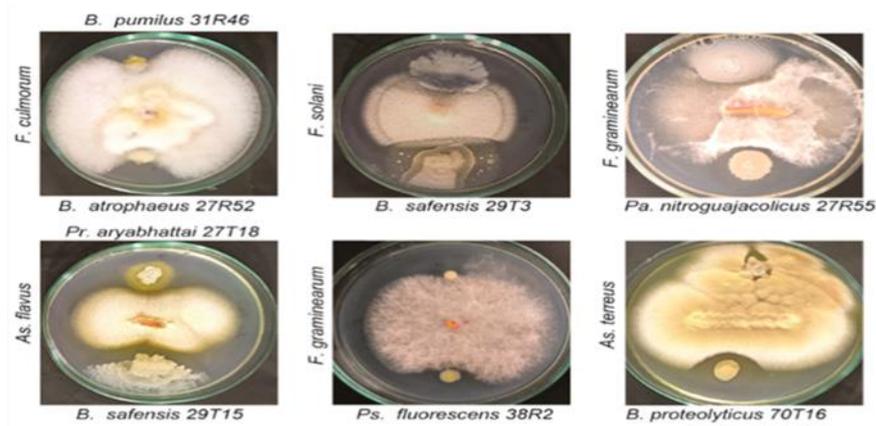
Dissertatsiyaning «**Fitopatogen zamburug'larga qarshi antagonist xususiyatga ega bakteriya shtammlarining molekulyar-filogenetik tahlili**» nomli uchinchi bobning birinchi bo'limida O'zbekistonning turli hududlaridan yig'ib kelingan o'simlik namunalaridan bakteriya shtammlarini ajratib olish va ularda

morfologik, fitopatologik, biokimyoviy tadqiqotlar o‘tkazish maqsadida tadqiqot dizayni tuzib olindi. O‘zbekistonning turli muhit va ekologik iqlim hududlari bo‘ylab yig‘ib kelingan o‘simlik namunalari maydalanib ulardan steril sharoitlarda fosfat tuzli buferda inkubatsiya qilinib,  $10^{-7}$  darajagacha suyultirildi. Ozuqaviy agarda hosil bo‘lgan bakterial koloniyalar randomizatsiya usuli orqali tanlab olindi. Tanlab olishda bakteriyalarning morfologik xolati, rangi, hajmi va strukturalariga e’tibor bergan holda tanlangan. Tanlab olingan hamda ajratilgan bakteriya koloniyalarining toza kulturalari kolleksiyada saqlash uchun ozuqaviy agarda ekildi. Toza kulturalar dastlab petri idishlariga 1/24 ta qilib ekib olindi. So‘ngra keying tadqiqotlarda saqlab qo‘yish va ifloslanish xavfini oldini olish maqsadida har bir bakteriya shtammlari uchun alohida petri idishlaridan foydalanildi (1-rasmga qarang). O‘zbekistonning turli agroekologik hududlarida o‘svuchi o‘simlik turlaridan jami 3328 ta bakterial shtammlar, jumladan ildizdan 1896 ta, poyadan 1459 ta namunalar ajratib olindi.



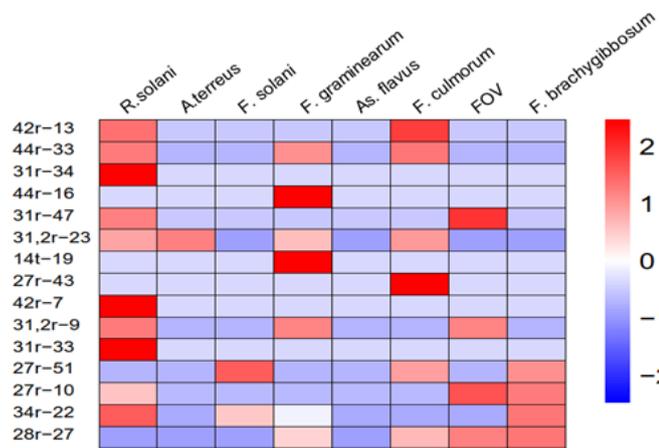
**1-rasm. O‘simlik namunalariidan ajratib olingan toza bakterial kulturalarni morfologik tasviri**

Namunalar koloniya rangining intensivligi bo‘yicha dastlabki statistika olib borildi. Tadqiqot davomida bakteriya shtammlarini patogen zamburug‘larga qarshi antagonist xususiyati o‘rganildi va olingan natijalar asosida statistik tahlil qilindi. Antagonist bakteriya turlarini o‘simlik turlariga nisbatan o‘zaro bog‘liqligini turlar taqsimotini tahlil qilish orqali tushuntirib berildi. Ajratilgan bakterial shtammlar *Rh. solani*, *F. solani*, *F.culmorum*, *F. graminearum*, *F. brachygibbosum*, *F.usarium oxysporum f. sp. vasinfectum*, *As.terreus* va *A.flavus* kabi fitopatogen zamburug‘larga qarshi in vitro sharoitda baholandi. 3328 ta ajratilgan shtammlardan 432 tasi yuqori antagonist faollikka ega ekanligi aniqlandi. Bakteriya izolyatlari orasidan 66R-12,13,29,32;27R-49,51,52,53,54,55,56;42R-13,14,16;27T-18,20;66R-19 va boshqalar o‘simlik patogenlariga qarshi turli darajadagi antagonistlik xususiyatini namoyon qildi (2-rasmga qarang). Umumiy 432 ta antagonist bakteriya izolyatlaridan 225 ta *Rh solani*, 4 ta *As. terreus*, 30 ta *F. solani*, 10 ta *A.flavus*, 99 ta *F. graminearum*, 148 ta *F. culmorum*, 99 ta *FOV*, 32 ta *F. brachygibbosumga* nisbatan antifungallikni namoyon qilgan bakteriyalar qayt etildi.



**2-rasm. Fitopatogen zamburug‘larga qarshi antifungal faollikka ega bakterial izolyatlar**

*B. atrophaeus* 66T1 bakteriya izolyati *F. graminearum* va *F. culmorum* ga qarshi kuchli 80%<; *R. solani* va *F. Solani* ga nisbatan o‘rtacha kuchli ya’ni 70%< ; *A.flavus* ga qarshi 60%< ingibitsiyani namoyon qildi. Shuningdek, *B. velezensis* 27T16 beshta zamburug‘ qo‘zg‘atuvchisi; *F. solani*, *F. graminearum* va *A.flavus* fitopatogen zamburug‘larga qarshi kuchli 80%; *Rh. solani*, *F. culmorum* zamburug‘ turiga qarshi 60-70%< ga qarshi ingibitsiya foizini ko‘rsatdi. *B. atrophaeus* 28R2 izolyati esa to‘rtta (*F. solani*, *F. culmorum*, *F. graminearum* va *A.flavus*) fitopatogen zamburug‘ga qarshi kuchli 80%< mitsilliy o‘shishiga ingiberlovchi antagonistlik qobiliyatini namoyon qildi. To‘rt xil fitopatogen zamburug‘ga nisbatan *B. altitudinis* 31.2R-23 izolyati o‘rtacha (20%-70%); *B. proteolyticus* 70T-16 izolyati (30%-50%); *B. safensis* 29T-3 (50%-80%<) hamda 27R-12 izolyati umumiy hisobda (30%-70%) ingibitsiya foizni ko‘rsatdi. Eng kuchsiz antagonistlik qobiliyati *B. spizizenii* 66t-32 izolyati tomonidan faqat bitta zamburug‘ - *F. culmorum*ga nisbatan 10% ingibitsion ko‘rsatkichni namoyon qildi (3-rasmga qarang).

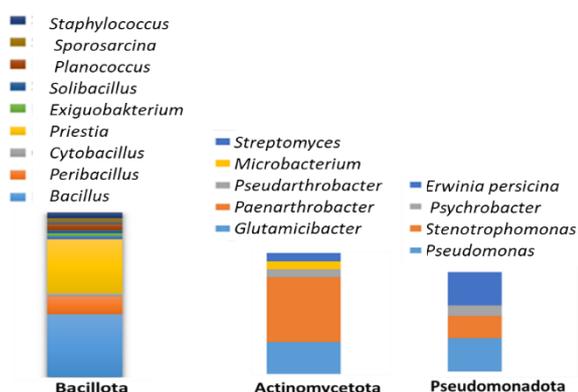


**3-rasm. Fitopatogen zamburug‘larga qarshi bakterial shtamlarning antifungal faolligini ko‘rsatadigan issiqlik xaritasi**

Sinovdan o‘tkazilgan zamburug‘lar tekshirilganda shunaqa xulosaga kelish mumkinki, *R. solani* bakterial ingibitsiyonga eng ko‘p moyil bo‘lgan, *A. terreus* va *F. solani* esa tolerant bo‘lgan.

Bakteriya shtammlaridan DNK ajratish usullarini optimallashtirish maqsadida to‘rtta usuldan sinov maqsadida foydalanadek. Faol shtamlardan DNK ajratish texnologiyalarini solishtirish orqali fenol:xlороform usuli moddiy samaradorligi va sifat ko‘rsatkichlari bo‘yicha eng maqbul usul sifatida DNK ajratib olindi. Ajratib

olingan bakteriya DNK namunalari universal primerlar 27F(5'AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') va 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') (Broderick et al. 2004) yordamida polimeraza zanjir reaksiyasi amalga oshirildi. Polimeraza zanjir reaksiyasi mahsulotlari 1,5% li agaroz gelida kapillyar elektroforez bilan ajratildi va lazer yordamida aniqlandi, bu elektroferogramma iz faylidan ketma-ketlikni qayta tiklashga imkon beradi. Olingan natijalar keyingi tadqiqot ishi uchun xujjatlashtiriladi. Sekvensiya reaksiyalari Sangon Biotech (Shinjan, Xitoy) da Sanger sekvens usuli yordamida amalga oshirildi. Sekvens natijalari DNASTAR Lasergene 7 to'plamidan SeqMan dasturi yordamida tahlil qilindi. Molekulyar identifikatsiya 16S rRNK geni asosida amalga oshirilib, Sekvens fayllarining tozalik va aniqlik darajasi 96-99% atrofida ekanligi qayd etildi. Natijada bakterial shtammlar 3 bo'lim, 7 ta tartib, 10 ta oila, 18 ta turkum va 65 dan ortiq turga mansubligi aniqlandi (4-rasmga qarang).

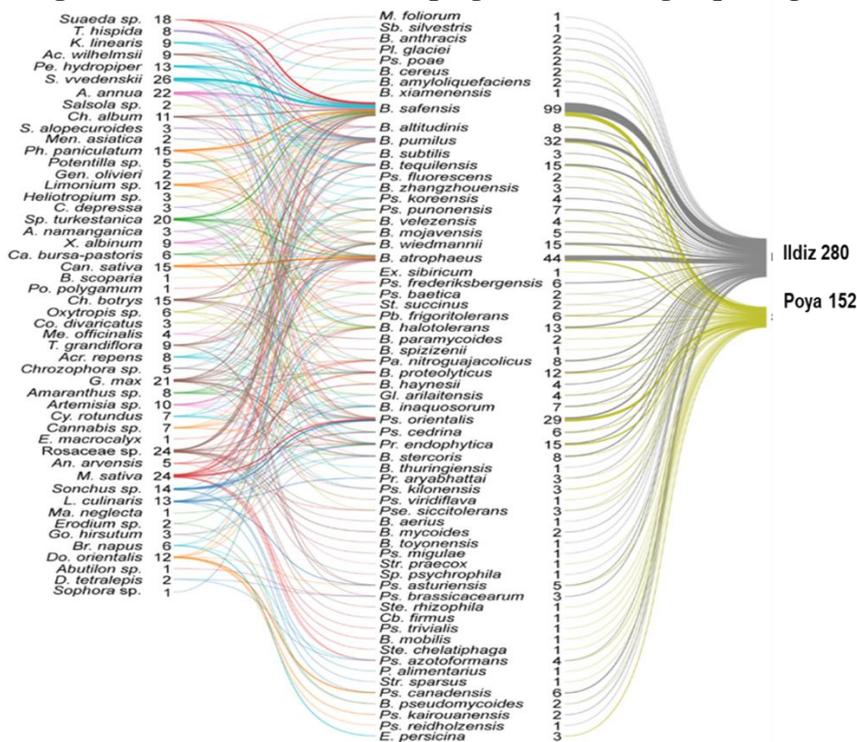


4-rasm. Bakteriya shtamlarning bo'lim bo'yicha taqsimlanishi

O'rganilgan bakteriyalar orasida eng katta sinf *Bacilli* tashkil etib, *Bacillaceae* oilasini tashkil etgan. Bu oilalar ham o'z navbatida kichik taksonomik birliklarga bo'lingan. Bular orasidan eng ko'p turkum boyligi bilan *Bacillus* (26) turkumi dominantlik qilgan. Turlarni tahlil qilganda esa *B. aerius*-1, *B. altitudinis*-8, *B. amyloliquefaciens*-2, *B. cereus*-4, *B. atrophaeus*-44, *B. halotolerans*-14, *B. haynesii*-4, *B. inaquosorum*-7, *B. mobilis*-1, *B. mojavensis*-5, *B. mycoides*-2, *B. paramycoides*-2, *B. proteolyticus*-12, *B. pseudomycoides*-2, *B. pumilus*-32, *B. safensis*-99, *B. spizizenii*-1, *B. stercoris*-8, *B. subtilis*-3, *B. tequilensis*-15, *B. thuringiensis*-1, *B. toyonensis*-1, *B. velezensis*-4, *B. wiedmannii*-15, *B. xiamenensis*-1, *B. zhangzhouensis*-3 ta namunadan iborat ekanligi aniqlandi. Bunga ko'ra *Bacillus* turkumi vakillari ichidan turning son jihatdan eng katta guruhini *B. safensis* va eng kichik ya'ni bitta shtammdan iborat *B. aerius* turi tashkil etdi.

O'simlik turlariga nisbatan tasniflanganda esa shtammlar 22 ta oila, 40 ta turkum va 50 dan ortiq turga tegishli ekani belgilandi. Antagonist bakteriya turlarining o'simlik turlari bo'yicha taqsimiy tahlili deb nomlanuvchi kichik bo'limda o'simliklar bilan bakteriya o'rtasidagi simbiotik aloqa ularni ajralish ko'rsatkichiga qarab tahlil qilindi. Unga ko'ra, antagonistik bakteriyalarning eng ko'p soni (jami 26 ta) to'qqiz xil bakteriya turini o'z ichiga olgan *S. vvedenskiy* da topilgan. Aksincha, eng kam son - faqat bitta bakterial tur - *B. scoparia* (*B. atrophaeus*), *E. macrocalyx* (*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*), *M. neglecta* (*Priestia endophytica*), *Po. Polygamum* (*B. atrophaeus*), *Sophora sp* (*B. altitudinis*) o'simlik turlaridan ajratib

oligan (5-rasmga qarang). *S. vvedenskiy* o‘simligini bakteriya turlariga nisbatan dominantlik qilishi ularning turli abiotik stress sharoitlarida (qurg‘oqchilik, yuqori harorat, sho‘rlanish va hakoza) yashab qolishi bilan bog‘liq deb taxmin qilindi. Eng ko‘p xilma-xil o‘simlik turlari bilan simbiotik aloqaga ega va ularning o‘shini rag‘batlantiruvchi ahamiyatga ega bakteriya turlari ichida *B. safensis* turi ekanligi statistik tahlillar orqali aniqlandi. *B. safensis* eng keng tarqalgan bakterial tur bo‘lib, 27 xil o‘simlik turidan ajratib olingan. O‘n to‘rtta o‘simlik turida boshqalarida uchramaydigan o‘ziga xos bakterial turlari topilgan. (5-rasmga qarang).



**5-rasm. Antagonistik bakteriyalarning o‘simlik turlari va o‘simlik qismlari bo‘yicha taqsimlanishi.**

O‘simlik organlari boylab bakteriyalarni tahlil qilish ildizlardan 280 ta va poyalardan 152 ta izolyatlarni aniqladi, bu ildizlarda antagonistik bakteriyalarning ko‘pligidan dalolat beradi. Antagonistik bakteriyalar orasida umumiy 21 tur, shulardan *Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalar 9 tur - *B. aerius*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. haynesii*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. toyonensis*, *B. xiamenensis* faqat ildizlarda topilgan. Aksincha, 17 tur - shu jumladan *B. cereus*, *B. mobilis*, *B. paramycoides*, *B. spizizenii*, *Cohnella firmus*, *Erwinia persicina*, *Ex. sibiricum*, *Gl. mishrai*, *pl. kocurii*, *Ps. kilonensis*, *Ps. trivialis*, *Ps. viridiflava*, *Psy. alimentarius*, *Ste. chelatiphaga*, *Ste. rhizophila*, *Str. praecox* va *Str. sparsus* - o‘simlikning poya qismida aniqlangan.

O‘simlik turlaridan ajratilgan antagonist bakteriyalarning filogenetik aloqadorligi bo‘limida 16S rRNK geni nukleotidlar ketma-ketligini molekulyar identifikatsiya qilish, bakteriya turlarining filogenetik tahlilini o‘rganish shuni ko‘rsatdiki, eng ko‘p dominant uchta eng katta bo‘lim *Firmicutes*, *Proteobakteriyalar* va *Aktinomisetlar* ekanligi aniqlandi (6-rasmga qarang).



shtammi 79- pozitsiyasida adenin (A) timinga (T), 147- pozitsiyada esa sitozi(C) nukleotidi yana timinga(T) o‘rin almashganligi sabab yagona nukleotid polimorfizmi ro‘y berganligi aniqlandi. Bu esa uchta allelning mavjudligidan dalolat beradi: A,C va T. Maksimum ehtimollik bahosi (MLE) nukleotidlar: adenin (A), timin (T), guanine (G), sitozi (C) o‘rtasidagi mutatsiyaga uchrash ehtimoligini ko‘rsatadi (7-rasmga qarang).

```

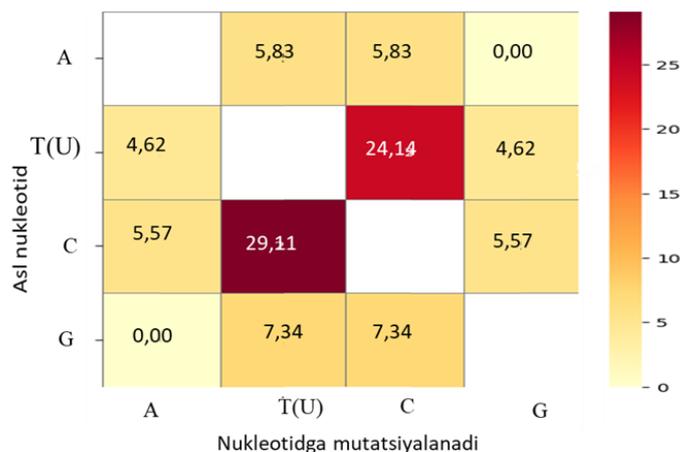
73r_1X0    AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTT 174
37r_7X1    AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTT 180
*****
PRIM.CON.S.AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGT2TGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTT

73r_1X0    CCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTAGGAGCCAGCCGCCGAA 1434
37r_7X1    CCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTAGGAGCCAGCCGCCGAA 1440
*****
PRIM.CON.S.CCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTT2TAGGAGCCAGCCGCCGAA

```

**7-rasm. *B. velezensis* shtammlarida SNP tahlili**

Quyida ko‘rsatilgan har bir qiymat bir nukleotiddan boshqasiga almashinish tezligini ko‘rsatadi ya‘ni bu birlik har bir nukleotidga nisbatan, har bir avlodda (ya‘ni replikasiya siklida) nechta mutatsiya yuz berishini bildiradi (Mutatsiyalar soni / nukleotid / avlod) Azot asoslari bo‘yicha tahlil qilinganda, pirimidin (T/U, S) asoslarining mutatsiyaga uchrash tezligi, purin (A, G) asoslarining mutatsiyaga uchrash ko‘rsatkichiga qaraganda yuqori qiymatga ega. Shungdek, guanidan adenina va adenindan guaninga almashinish tezligi 0,00 ga teng bo‘lib, bunda T(U) va G o‘rtasida nukleotidlar almashinuvi kuzatilmagan. (8-rasmga qarang).



**8-rasm. *B. velezensis* shtammlarida SNP tahlili va MLE asosida baholangan nukleotidlar almashinish matritsasi**

T(U) va A o‘rtasida nukleotidlar almashinish tezligi o‘rtacha T(U) dan A ga 5.83, A dan T(U) ga 4.62 qiymatlariga ega bo‘lishi, ushbu nukleotidlar o‘rtasida mutatsiyaga uchrash ehtimoli borligidan darak beradi.

Quyidagi jadvalda ko‘rinib turibdiki, A nukleotidining T(U) ga mutatsiya ehtimoli ~45.3%, C ga ~54.7%, G ga esa 0%; T(U) nukleotidining C ga o‘zgarishida mutatsiya ehtimoli eng yuqori ~ 68.8%.G ning A ga o‘zgarish ehtimoli esa 0% ga teng. Ushbu tahlillar *B. velezensis* bakteriya shtammlarining filogenetik daraxtni qurishda evolyutsion munosabatlarni baholashda muhim rol o‘ynaydi. Tahlillarga ko‘ra *B. velezensis* 73r-1 va 56t-18 shtammlar bitta kladada joylashgan bo‘lib o‘zaro kelib

chiqish evolyutsiyasi yaqin, 27t-16 hamda 37r-7 shtammlari alohida alohida kladalardan kelib chiqqanligi aniqlandi.

## 1-jadval

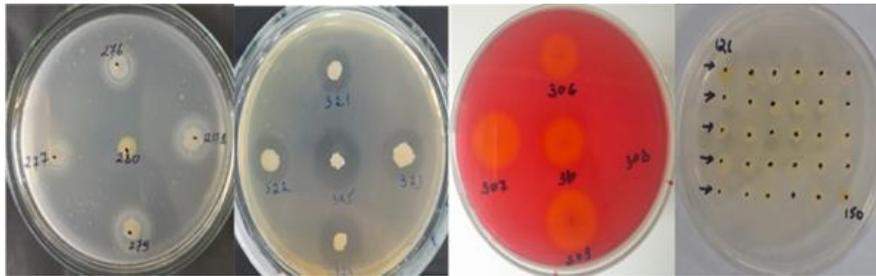
### Har bir nukleotidning mutatsion o'zgarish ehtimoli (foizda) asosida umumiy baholash

	A	T(U)	C	G
A	0	45.34	54.66	0
T(U)	13.79	-	68.82	17.3
C	15.63	64.68	-	19.68
G	0	45.34	54.66	-

*B.velezensis* bakteriya shtammlarining nukleotidlar o'rtasida kuzatilgan mutatsiya tezligidan quyidagicha xulosa qilish mumkin: A→G: 0→A dan G ga mutatsiya juda kam yoki bo'lmaydi. A→T: 4.62, A→C: 5.57→A dan T yoki C ga mutatsiyalanish mumkin, lekin ehtimoli past ekanligidan dalolat beradi. T→C: 29.11, C→T: 24.14→bu transitsiya mutatsiyalari, ya'ni purin↔purin (A↔G) yoki pirimidin↔pirimidin (C↔T) o'rtasida sodir bo'ladigan mutatsiyalar bo'lib, ko'pincha boshqa turlarga qaraganda tezroq ro'y beradi. Ya'ni: transitsiyalar (C↔T va A↔G) ko'proq uchrab; transversiyalar (purin↔pirimidin, masalan A↔C, A↔T) kamroq uchrashidan dalolat beradi. Jadvalda ko'rsatilgan katta sonlar (masalan, 29.11, 24.14) o'sha yo'nalishdagi nukleotidlar o'rtasida mutatsiya ehtimoli yuqori ekanini bildiradi. 37r-7 shtammi Qashqadaryo viloyati Muborak cho'l o'simligidan ajratib olingan. Cho'l hududlarida: harorat o'zgaruvchanligi yuqori, namlik darajasi past, tuz yoki og'ir metallarning yuqori miqdorda ekanlik ehtimoli bor. Bu kabi omillar stress holati bo'lib, bakteriyada mutatsiya paydo bo'lishiga turtki bo'lishi mumkin.

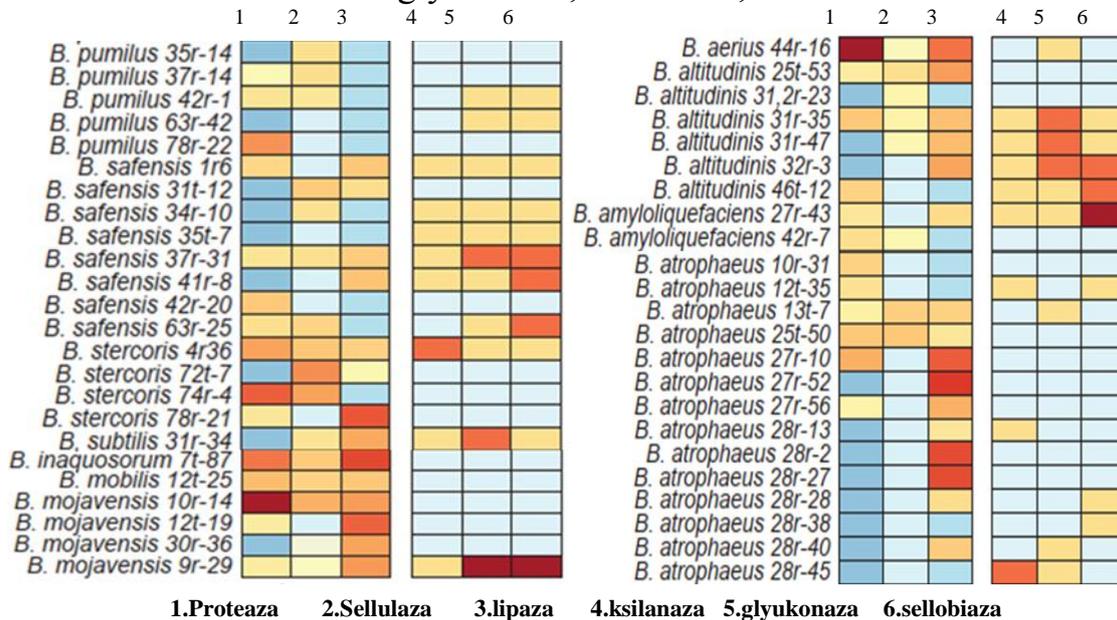
*Bacillus velezensis* turi shtammlarida olib borilgan taqdiqot ishlari *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii*, *B. tequilensis*, *B. stercoris* turiga amnsub shtammlarda ham o'rganildi. Natijalarga ko'ra *B.atrophaeus* 28r-27 va 43r-29 shtammida 16- nukleotid lokusida timin (T) sitozinga (C); 12t-35 shtammida 65- nukleotid lokusida guanin (G) sitozinga (C), almashinib qolishi ularni geografik joylashuvi bilan bog'landi. *B.wiedmannii* 8r-16 shtammning 451, 486, 503 pozitsiyada nukleotidlar ketma-ketligida almashish kuzatilgan. Unga ko'ra, 451- nukleotid lokusida adenin (A) sitozinga (C), 486-pozitsiyada sitozin (C) timinga (T), 503- pozitsiyada esa sitozin (C) guaninga almashib qolgan. *B.wiedmannii* 12t-40 shtammida bir nechta nukleotidlar lokusida ketma- ketlik o'zgarganligi aniqlandi. Shuningdek, *B.stercoris* 42r-13 shtammi boshqa ushbu tur shtammlaridan uchta nukleotid lokuslarida nukleotidlar ketma-ketligining almashinishi bilan farq qilishi aniqlandi.

Dissertatsiyaning «**Bakteriyalarning ferment aktivlik xususiyatlari va bionazoratdagi roli**» nomli to'rtinchi bobning birinchi bo'limida bakteriyalarning ferment faollik xususiyatlarini aniqlashga qaratilgan tadqiqot natijalari yoritilgan. O'simlik bakteriyalari faol aktivlikka ega fermentlardan proteaza, lipaza, sellyulaza, glukanaza, sellobiaza va ksilanazaga nisbatan biokimyoviy faollik xususiyatlari bo'yicha sinovdan o'tkazildi (9-rasmga qarang).



**9-rasm. Antagonist bakteriyalarning fermentativ faolligi**

Bakteriyalar avlodlari orasida *Bacillus* turlari eng kuchli proteaza, sellyulaza va lipaza faolligini namoyish etib, bu fermentativ funktsiyalar bo'yicha boshqa turkumlarni ortda qoldirdi. Olingan natilarga ko'ra, *B. atrophaeus* 74t-11, *B. amyloliquefaciens* 27r-43, *B. altitudinis* 46t-12, *B. halotolerans* 78r-6, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 32r-9, *B. safensis* 54t-10, 37r-15, *B. stercoris* 7r9, *B. subtilis* 31r-34, *B. tequilensis* 38r-17, 41r-7, *B. wiedmannii* 27r-47, *B. xiamenensis* 41r-42 bakteriya shtammlari har uchala ferment glyukanaza, sellobiaza, ksilinaza faollikni ko'rsatdi.



**10-rasm. Antagonist bakteriyalarning ferment aktivlik xususiyati**

Bakteriya shtammlari orasidan *B. altitudinis* 31r-35, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 44r-29, *B. safensis* 54t-10, 38t-20, 41r-18, 41r-28, 44t-26, *B. stercoris* 7r-9, *B. tequilensis* 38r-17 bakteriya shtammlari xar oltita fermentga: proteolitik, sellyulotik, lipolitik, glyukanaza, sellobiaza, ksilanazaga aktivlik namoyon qildi. *B. aerius* 44r-16, *B. altitudinis* 46t-12, *B. atrophaeus* 7r42, 4r51, *B. cereus* 38t-15, *B. halotolerans* 44r-24, *B. pumilus* 63r-14, 28r-36, 25t-49, *B. safensis* 63r-25, 10r-15, 38r-16, *B. tequilensis* 66r-14, *B. toyonensis* 44r-13, *B. velezensis* 37r-7, *B. wiedmannii* 7r1-20, *B. xiamenensis* 41r-42, *B. zhangzhouensis* 35r-3 va boshqa bakteriya shtammlari glyukanaza, sellobiaza, ksilinaza, proteaza, lipaza, sellyulaza fermentlaridan to'rttasiga ferment aktivlikni namoyon qilgan. (10-rasmga qarang). Ushbu shtammlarning keng enzymatik faolligi shuni ko'rsatadiki, u o'simlik patogenlarining keng doirasini yo'q qilish va o'simlik salomatligini yaxshilashda muhim rol o'ynashi va uni qishloq xo'jaligida qo'llanilishi uchun istiqbolli nomzodga aylantirishi mumkin. Tadqiqotlarimiz davomida umumiy 432 ta antagonist bakteriya shtammlaridan

*Bacillus* turkumiga mansub 291 ta bakteriyadan 181 ta izolat yoki 62% proteolitik faollikni, 166 ta ya'ni 57 % izolat sellyulolitik, 133 ta yoki 46% shtamm turli darajada lipolitik, 38% ya'ni 111 ta shtamm glyukanaza, 22% yoki 66 tasi ksilinaza, 23% yoki 67 ta shtamm esa sellobiazaga nisbatan fermentativ faollik belgilarini namoyon qildi.

Dissertatsiyaning antagonist bakteriyalarni o'simliklarga inokulyatsiya qilish va ularning himoya samaradorligini baholash deb ataluvchi kichik bo'limda antagonist bakteriyalarni bug'doy g'o'za va no'xat o'simligiga nisbatan bionazorat vosita sifatidagi rolini baholashga doir tadqiqotlar o'tkazilgan.

Bug'doyning sariq zang kasalligiga qarshi ildiz orqali inokulyatsiya: *Bacillus cereus* (24t-38), *B. atrophaeus* (27r-43), *B. halotolerans* (27t-18) va boshqalar o'simliklar holatini S (sezgir) darajadan MR (o'rtacha chidamli) darajagacha yaxshiladi; bargga purkash orqali ishlov berilganda esa: *B. cereus* (27r-55), *B. mobilis* (12t-25), *B. zhangzhouensis* (62t-36) shtammlari himoyani ta'minladi. Ildiz orqali inokulyatsiya purkash usuliga nisbatan kuchliroq himoya effektini ko'rsatdi. Bakteriyalar o'simlikning immun javobini faollashtirib, patogenlar ta'sirini bostirishda samarali bo'ldi.

Keyingi tadqiqotimiz no'xat o'simligida fuzarioz kasalligini keltirib chiqaruvchi patogen *F. brachygibbosum* ga qarshi antagonist bakteriyalarning ta'sirini baholashga qaratilgan. Tajriba o'tkazilgan no'xat namunalarining ildiz, poya uzunliglari o'lchanib, statistik tahlil qilindi. Olingan natijalar asosida zamburug' bilan zararlangan nazorat o'simliklarga qaraganda *Bacillus safensis*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus* kabi antagonist bakteriyalar bilan ishlov berilgan no'xat o'simliklarda fuzariozga chidamliligini 45-50% gacha oshirdi.

Keyingi tadqiqotimiz g'o'za o'simligida so'lish kasalligini chaqiruvchi *FOV* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) ga qarshi antagonistik xususiyatga ega 32 ta bakterial shtamm tanlab olinib, ularning g'o'za o'simligida kasallikka chidamlilikka ta'siri baholandi. Natijalarga ko'ra, umumiy sog'lom o'simliklarning o'rtacha o'sish darajasi 73% ni tashkil etdi. Laboratoriya va vegetatsion sharoitda olib borilgan tajribalar natijasida, antagonistik xususiyatga ega bo'lgan bakteriyalar-xususan, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus proteolyticus* kabi mikroorganizmlar - *FOV* koloniyalarining o'sishini sezilarli darajada cheklashi, shuningdek, o'simlik ildiz zonasi (rizosfera)da foydali mikrofloraning shakllanishiga yordam berishi aniqlangan. Bu esa o'z navbatida o'simlikning tabiiy immun tizimini faollashtirib, patogenning o'simlik to'qimalariga kirib borishini va rivojlanishini oldini oldi. Xulosa qilib aytganda, antagonist bakteriyalar paxtada *FOV* patogeniga qarshi biologik kurashning istiqbolli va ekologik xavfsiz vositasi sifatida qaralmoqda.

## Xulosalar

1. O'zbekistonning turli agroekologik hududlarida o'suvchi o'simlik turlaridan jami 3328 ta bakterial shtammlar, jumladan ildizdan 1869 ta, poyadan 1459 ta namunalar ajratib olindi. Shtammlar dastlabki morfologik usullar yordamida tahlil qilindi.

2. Bakteriyalardan genom DNK ajratish usulini optimallashtirish maqsadida tanlab olingan fenol- xloroform usuli yordamida ajratib olingan genom DNK larda

molekulyar identifikatsiya tahlillar o'tkazildi. Natijada shtammlar 3 bo'lim, 7 ta tartib, 10 ta oila, 18 ta turkum va 40 dan ortiq turga mansubligi aniqlandi. *B. avlodiga* mansub bakteriyalar dominant tur sifatida qayt etildi.

3. Bakteriya ajratib olingan o'simlik namunalari oila, turkum, tur darajasigacha tahlil qilindi. Ajratib olingan bakteriya shtammlari 22 ta oila, 40 ta turkum va 50 dan ortiq o'simlik turiga tegishli ekanligi aniqlandi. Ular orasida bakteriyalarga boy tur sifatida *Salsola vvedenskii* o'simligidan 26 turga mansub antagonist bakteriya shtammlari ajratilgani ushbu o'simlik mikrobiotasining antagonist bakteriyalar bilan boyligini ko'rsatadi.

4. Yagona nukleotid polimorfizmlari (SNP) tahlillari natijasiga ko'ra o'simlik bakteriyalari orasidan *B. velezensis* 37r-7 shtammida ikkita, *B. atrophaeus* 43r-29, 4r-54, 28r-27 shtammlarida bitta *B. wiedmannii* 8r-16 shtammida uchta, 12t-40 shtammida beshta, *B. tequilensis* 38t-4, 66r-13 shtammlarida bitta, *B. stercoris* 42r-13 bakteriya shtammida uchta nukleotid lokusida tur ichida nukleotidlar almashinuvi ro'y berganligi aniqlandi. Shtammlar orasida SNP hodisasining ro'y berishi, ularning ekologik tarqalish muhiti bilan bog'liq ekanligidan dalolat beradi.

5. Ajratilgan bakterial shtammlar *Rh. solani*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. brachygibbosum*, *F. oxysporum f. sp. vasinfectum*, *A. terreus* va *A. flavus* kabi fitopatogen zamburug'larga qarshi *in vitro* sharoitda baholandi va ularning 432 tasi yuqori antagonist faollikka ega jumladan, *B. atrophaeus* 66T1, *B. velezensis* 27T16, *B. atrophaeus* 28R2, *B. altitudinis* 31.2R-23, *B. proteolyticus* 70T-16, *B. safensis* 29T-3 shtammlari aniqlandi.

6. Morfologik, biokimyoviy va fermentativ faollikni baholash natijasida *Bacillus* turkumiga mansub 291 ta shtammdan: 181 tasi proteolitik, 166 tasi sellulolitik, 133 tasi lipolitik, 111 tasi glyukanaza, 66 tasi ksilinaza, 67 tasi sellobiaza fermentlariga nisbatan fermentativ faollik namoyon qilgan. *B. turkumiga* mansub antagonist bakteriya orasidan: *B. altitudinis* 31r-35, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 44r-29, *B. safensis* 54t-10, 38t-20, 41r-18, 41r-28, 44t-26, *B. stercoris* 7r-9, *B. tequilensis* 38r-17 shtammlari har oltita fermentga nisbatan aktivlik ko'rsatgan.

7. Biologik faolligi, molekulyar va fermentativ xususiyatlari asosida tanlab olingan shtammlar: *B. mojavensis* 30r-36, *B. cereus* 27r-55, *B. cereus* 31,2R-9 – bug'doyda sariq zang, *B. safensis* 66r-19, *B. halotolerans* 1r-42 – no'xatda fuzarioz, *B. atrophaeus* 28r-41 va *B. pumilus* 4t-36– g'o'zada so'lish kasalligi bilan kasallanish darajasini oshirmasdan, o'simlik ildiz zonasi (rizosfera)da foydali mikrofloraning shakllanishiga yordam berishi aniqlandi. Natijada o'simlikni fitopatogenlarning zararli ta'siriga qarshi samarali bionozorat agentlari sifatida tavsiya etildi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЁНЫХ СТЕПЕНЕЙ  
DSc.02/30.12.2019.В.53.01 ПРИ ИНСТИТУТЕ ГЕНЕТИКИ И ЭКСПЕРИ-  
МЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ**

---

**ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ**

**ШОДМОНОВА МУХЛИСА КОМИЛОВНА**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО БИОРАЗНООБ-  
РАЗИЯ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* ПРО-  
ТИВ ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ**

**03.00.03 – Молекулярная биология, молекулярная генетика, молекулярная биотехноло-  
гия**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО БИОЛОГИЧЕ-  
СКИМ НАУКАМ**

**ТАШКЕНТ – 2025**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инновации Республики Узбекистан за номером В2025.1.PhD/В1365.**

Диссертация доктора философии (PhD) выполнена в Институте генетики и экспериментальной биологии растений.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском) (резюме) размещён на веб-страница Научного совета ([www.genetika.uz](http://www.genetika.uz)) и Информационно-образовательном портал "ZiyoNet" ([www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)).

**Научный руководитель:** **Бозоров Тохир Ахмадович**  
доктор биологических наук, старший научный сотрудник

**Официальные оппоненты:** **Долимова Дильбар Акбаровна**  
доктор биологических наук, профессор

**Якубов Искандар Тахирович**  
кандидат биологических наук, доцент

**Ведущая организация:** **Институт Микробиологии**

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года в \_\_\_\_ часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.В.53.01 при Институте генетики и экспериментальной биологии растений, (Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район, п/о Юкори-юз. 266-дом, Актный зал Института генетики и экспериментальной биологии растений. Тел.: (99871) 264-23-90, факс: (99871) 264-22-30. E-mail: [igebr@academy.uz](mailto:igebr@academy.uz), [igebr\\_anguz@mail.genetika.exat.uz](mailto:igebr_anguz@mail.genetika.exat.uz))

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института генетики и экспериментальной биологии растений (зарегистрировано за № \_\_\_\_). Адрес: 111208, Ташкентская область, Кибрайский район, п/о Юкори-юз 266- дом. Тел.: (99871) 264-23-90.

Автореферат диссертации разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025года.  
(реестр протокола рассылки № \_\_\_\_ от «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года).

**А.А. Нариманов**  
Председатель научного совета по  
присуждению ученых степеней,  
д.с/х.н., профессор

**И.Дж. Курбанбаев**  
Ученый секретарь научного совета по  
присуждению учёных степеней,  
д.б.н., профессор

**И.Т. Каххаров**  
Председатель научного семинара при  
Научном совете по присуждению  
учёных степеней, д.с/х.н., профессор

## **ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии( PhD))**

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире масштабе изучение генетического разнообразия и молекулярных основ микроорганизмов, связанных с растениями, в частности бактерий, является одним из наиболее актуальных научных направлений современной микробиологии, экологии и агробиотехнологии. Молекулярно-генетические исследования позволяют определить геномный состав, мутационные изменения и функциональные маркеры бактерий. Особое значение имеет мутационная дивергенция и идентификация на основе генетических маркеров бактерий-антагонистов рода *Bacillus* для определения их активности против фитопатогенов. Изучение этих процессов служит научной основой для создания средств биологической борьбы и микробиологических препаратов.

В мире многие ученые проводят научные исследования по изучению бактерий-антагонистов, борющихся с фитопатогенами растений. В связи с этим особое значение имеют исследования, проводимые по распространению видов бактерий рода *Bacillus*, их классификации, адаптации к биотическим и абиотическим стрессовым условиям среды, изучению механизмов защиты от фитопатогенных грибов, молекулярной идентификации видов бактерий - антагонистов, оценке биохимической активности бактерий, обладающих антифунгальным значением, оптимизации методов длительного хранения бактерий, использованию микроорганизмов в качестве источника при разработке средств биологического контроля.

В нашей Республике изучение микроорганизмов, стимулирующих рост растений в сельском хозяйстве, приобретает всё более важное значение. В Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы определены задачи по "...созданию сортов, устойчивых к болезням и вредителям, способных адаптироваться к различным экологическим условиям, а также по обеспечению продовольственной безопасности". В реализации данных задач важное практическое значение имеет использование биологических агентов контроля за счёт изучения группы бактерий, стимулирующих рост растений (Plant Growth-Promoting Bacteria – PGPB), в сельскохозяйственной сфере.

Данное диссертационное исследование, подготовленное для получения степени доктора философии по биологическим наукам, в определенной степени способствует выполнению задач, предусмотренных в Указом Президента Республики Узбекистан от 23 октября 2019 года No УП-5853 "О Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы", в Указе Президента Республики Узбекистан от 30 января 2025 года No УП-16 "О Государственной программе по реализации Стратегии "Узбекистан-2030" в Год охраны окружающей среды и "зеленой экономики" а также в других нормативно-правовых актах, относящихся к данной сфере деятельности.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в рамках

приоритетного направления развития науки и технологий республики “Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды.”. Поскольку в эпоху глобальных экологических проблем использование бактерий-антагонистов, борющихся против фитопатогенов растений, в качестве средства биоконтроля рекомендуется как решение существующих проблем в сферах сельского хозяйства, промышленности и производства.

**Степень изученности проблемы.** В мировом масштабе проведены широкомасштабные научные исследования по изучению молекулярно-генетического разнообразия и биохимической активности бактерий-антагонистов рода *Bacillus* против фитопатогенных грибов. Зарубежом (Kaplan D., 2013; Schwartz A. 2013; Geiser D., 2013; Khan N., 2017; Etesami H., 2023; Ayaz M., 2023), в странах СНГ (Sidlyarevich V.I., 2015; Khassenov B., 2020; Chebotar V.K., 2021) рядом ученых были проведены углубленные исследования антагонистической активности бактерий рода *Bacillus* против различных растительных грибов (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*), а также изучено их применение в качестве агента биоконтроля. Эти исследования направлены на изучение ферментативной активности бактерий, такой как протеаза, липаза и глюканаза, а также механизмов их противодействия патогенам на молекулярном уровне.

В нашей республике проведены важные исследования по изучению микробиоты растений и почвенных бактерий. Ряд отечественных исследователей (Эгамбердиева Д., 2003; Шурыгин В., 2020; Норбоев М., 2021; Бозоров Т., 2021; Давронов К., 2022; Айтенов И., 2024; Сетора Самадий А., 2024 г) проанализировали свойства устойчивости растительных и почвенных бактерий к засолению. Эти работы были направлены на изучение экологических и функциональных особенностей почвенной микробиоты в условиях Узбекистана и продемонстрировали значимость бактерий в защите сельскохозяйственных культур.

Однако, в условиях различных агроэкологических регионов Узбекистана недостаточно проведены исследования по генетическому разнообразию бактерий-антагонистов рода *Bacillus*, их классификации на основе анализа однонуклеотидного полиморфизма (SNP) и применению в качестве агентов биоконтроля против фитопатогенных грибов. Это указывает на необходимость проведения глубоких научных исследований в данной области и разработки стратегий биоконтроля, адаптированных к местным условиям.

**Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена работа.** Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ Института генетики и экспериментальной биологии растений по фундаментальному проекту “ФЗ-20200929166 - Молекулярное определение бактерий-антагонистов против патогенных грибов из микробиоты растений, внедрение их роли в защите сельскохозяйственных культур.”

**Целью исследования** является изучение молекулярно-генетического разнообразия бактерий рода *Bacillus* в образцах растений, полученных из различных агроэкологических регионов Узбекистана, и их антагонистических свойств против фитопатогенных грибов, а также оценка возможности их использования в качестве средства биоконтроля в сельском хозяйстве.

**Задачи исследования:** состоят в следующем:

Выделение изолятов бактерий рода *Bacillus* из образцов растений (корней, стеблевой части), полученных из различных агроэкологических регионов Узбекистана, и размещение чистых культур в коллекции;

Определение эффективности методов выделения высококачественной ДНК из бактериальных изолятов и проведение их молекулярной идентификации;

Тестирование антагонистических свойств изолятов *Bacillus* против фитопатогенных грибов (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp.) в условиях *in vitro*;

Проведение таксономического анализа видов растений, богатых видами бактерий, в различных агроэкологических регионах;

Проведение анализа однонуклеотидного полиморфизма для изучения генетической изменчивости бактерий и выявление филогенетических связей;

Определение морфологических, биохимических и ферментативных свойств отобранных изолятов;

Инокуляция бактерий-антагонистов на растения пшеницы, гороха и хлопчатника, оценка эффективности защиты от фитопатогенных грибов (желтая ржавчина, фузариоз, болезни увядания) и разработка рекомендаций по применению бактерий рода *Bacillus* в качестве средства биоконтроля в сельском хозяйстве.

**Объектом исследования** послужили бактерии рода *Bacillus*, выделенные из образцов растений (корней, стеблей), взятых из различных агроэкологических регионов Узбекистана, и фитопатогенные грибы, поражающие сельскохозяйственные культуры.

**Предметом исследования** являются генетическое разнообразие бактерий рода *Bacillus*, последовательности генов 16S рРНК, однонуклеотидный полиморфизм (SNP), способность продуцировать биологически активные соединения и антагонистические свойства против фитопатогенных грибов.

**Методы исследования.** При выполнении диссертационного исследования использовались традиционные методы молекулярной генетики, в том числе метод выделения геномной ДНК (Фенол-хлороформ, СТАВ, лизис, Teagen кит), ПЦР-анализ, гель-электрофорез, метод секвенса Сангера, а также микробиологический, фитопатологический и биоинформатический анализ.

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

Впервые посредством анализа однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в гене 16S рРНК бактерий рода *Bacillus* была выявлена мутационная

изменчивость у видов *B. velezensis*, *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii* и *B. stercoris*, и подтверждена связь этих изменений с географическими и экологическими факторами;

Из 3328 изолятов бактерий, полученных из различных агроэкологических регионов Узбекистана, у 432 обнаружена высокая антагонистическая активность, и более 26 видов *Bacillus* были классифицированы путем секвенирования гена 16S рРНК и анализа SNP;

Среди бактерий, выделенных из растительной ткани, доминирующей группой является род *Bacillus*, а на видовом уровне наиболее распространенными видами были *B. safensis*, *B. atrophaeus* и *B. pumilus*;

Систематически изучены антагонистические свойства бактерий рода *Bacillus* против фитопатогенных грибов, таких как *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. в условиях *in vitro*. Из 432 изолятов выявлены высокие показатели ингибирования (60-80%) у 225 изолятов против *Rh. solani*, 148 - против *F. culmorum*, 14 - против *Aspergillus* spp. и других патогенов;

Филогенетический анализ, проведенный на основе гена 16S рРНК, позволил разделить виды *Bacillus* на три основных клада, а также разработать близкую эволюционную филогению видов *B. aerius*, *B. pseudomycooides* и *B. spizizenii*;

Из бактерий с высокой ферментативной активностью выделены изоляты, продуцирующие биологически активные вещества по отношению к протеазе, целлюлозе, липазе, ксиленазе, глюканазе и целлюбиазе;

На основе биологической активности, молекулярных характеристик и ферментативных свойств доказано, что отобранные штаммы бактерий *B. inaquosorum*, *B. mojavensis*, *B. proteolyticus*, *B. safensis*, *B. halotolerans*, *B. atrophaeus* и *B. pumilus* действуют как перспективные средства биоконтроля;

Установлена возможность повышения устойчивости к желтой ржавчине, фузариозу и увяданию на 45-50% путем инокуляции отобранных бактерий рода *Bacillus* на пшеницу, нут и хлопчатник.

**Практические результаты исследования** заключается в следующем:

Бактериальные штаммы рода *Bacillus* (*B. velezensis* 27T16, *B. atrophaeus* 28R2, *B. altitudinis* 31.2R-23, *B. safensis* 29T-3, *B. proteolyticus* 70T-16) определены как перспективные биоконтролирующие средства для использования в сельском хозяйстве в качестве альтернативы химическим пестицидам с эффективностью ингибирования 60-80% против фитопатогенных грибов, таких как *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. и *Aspergillus* spp.;

Доказано, что штаммы бактерий *B. mojavensis* 30r-36, *B. cereus* 27r-55, *B. cereus* 31,2R-9, *B. safensis* 66r-19, *B. halotolerans* 1r-42, *B. atrophaeus* 28r-41 и *B. pumilus* 4t-36 способны повысить устойчивость к желтой ржавчине и фузариозным болезням на 45-50% путем инокуляции на пшеницу, нут и хлопчатник, и выделены как эффективные виды для защиты сельскохозяйственных культур в условиях Узбекистана;

Были выявлены штаммы бактерий с высокой биохимической активностью и способностью продуцировать биологически активные соединения: *B. altitudinis* 31r-35, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 44r-29, *B. safensis* 54t-10, 38t-20, 41r-18, 41r-28, 44t-26, *B. stercoris* 7r-9, *B. tequilensis* 38r-17.

Было доказано, что фенол:хлороформный метод выделения ДНК из бактерий является наиболее целесообразным с точки зрения экономической эффективности и качества, и в условиях Узбекистана разработана оптимизированная методология для молекулярно-биологических исследований.

**Достоверность результатов исследования** обосновывается использованием в изысканиях современных молекулярно-генетических, микробиологических и фитопатологических методов, анализом полученных научных данных с применением современных методологических и статистических подходов с использованием программ SeqMan и MEGA12, а также сравнением результатов молекулярно-генетической идентификации с данными международной базы NCBI GenBank с помощью программы BLAST. Достоверность подтверждается также соответствием полученных теоретических и практических результатов научным подходам, сопоставлением их с зарубежным и отечественным опытом, обоснованностью выявленных закономерностей и выводов, обсуждением научных и практических результатов на международных и республиканских научно-практических конференциях, а также их публикацией в научных изданиях.

#### **Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость результатов исследования объясняется выявлением однонуклеотидных полиморфизмов, генетического разнообразия и биохимической активности изолятов рода *Bacillus*, выделенных из различных агроэкологических районов Узбекистана, а также оценкой их антагонистической активности по отношению к фитопатогенным грибам. Были классифицированы доминирующие виды, такие как *B. safensis*, *B. atrophaeus* и *B. pumilus*, а также подтверждена взаимосвязь мутационной изменчивости видов *B. velezensis*, *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii* и *B. stercoris* с географическими и экологическими факторами.

Практическая значимость результатов исследования объясняется выделением штаммов бактерий рода *Bacillus* (*B. mojavensis* 30r-36, *B. cereus* 27r-55, *B. cereus* 31,2R-9, *B. safensis* 66r-19, *B. halotolerans* 1r-42, *B. atrophaeus* 28r-41 и *B. pumilus* 4t-36), обладающих антагонистическими свойствами против фитопатогенных грибов, продуцирующих биоактивные вещества, стимулирующие рост растений, и создающих благоприятную среду обитания для роста растений в различных стрессовых условиях для сельского хозяйства Узбекистана, а также их исследованием в качестве эффективного средства биоконтроля для молекулярно-биологических исследований.

**Внедрение результатов исследования.** На основе результатов, полученных при определении молекулярно-генетического разнообразия

антагонистических бактерий рода *Bacillus*, обладающих активностью против патогенных грибов, из различных агроэкологических регионов Узбекистана были выделены чистые культуры бактерий рода *Bacillus*, обладающие антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенных грибов — *Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus mobilis*, *Bacillus thuringiensis*.

Данные изоляты переданы в генофонд коллекции уникальных объектов «Фитопатогенные и другие микроорганизмы» Института генетики и экспериментальной биологии растений (справка № 4/1255-1521 от 20 июня 2025 г., АН РУз). В результате коллекция штаммов бактерий была обогащена и создана возможность использования разнообразия видов бактерий.

Изоляты бактерий рода *Bacillus* по результатам секвенирования гена 16S рРНК зарегистрированы на платформах NCBI (Национальный центр биотехнологической информации, США), EMBL-EBI (Европейский нуклеотидный архив, Великобритания, Кембридж) и DDBJ (База данных ДНК, Япония) под идентификационными номерами PV653545, PV653526, PV653521, PV653522 (данные NCBI, 19 мая 2025 г.; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/PV653545>). Регистрация в международных базах данных способствовала их пополнению и создала возможности для глобального изучения видов бактерий рода *Bacillus*.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования были обсуждены на 11 научно-практических конференциях, в том числе на 2 международных и 9 республиканских.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 4 статьи, в том числе 2 в республиканских и 2 статьи в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключений, списка использованной литературы и списка условных обозначений и терминов, а также приложений. Объём диссертации составляет 113 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Во введении** обосновывается актуальность и необходимость проведенного исследования, описываются цель и задачи исследования, объект и предмет, показано соответствие научной работы приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, приводятся сведения о внедрении результатов исследования в практику, опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «Генетическое разнообразие растительных микроорганизмов и их механизмы борьбы с

**фитопатогенами»** описано происхождение бактерий рода *Bacillus*, секвенирование гена 16S рРНК и определение генетического разнообразия на основе филогенетического анализа с использованием SNP. Приведены данные о роде *Bacillus*, обладающем антагонистическими свойствами, ингибирующими развитие фитопатогенных грибов. Научно-практические результаты по изучению биохимических, молекулярных и физиологических механизмов воздействия бактерий рода *Bacillus* для понимания их роли в биоконтроле представлены через обзор экспериментов и научных работ ученых мира. Анализ многочисленных опубликованных статей мировых ученых способствует формулированию основных целей и задач данной работы.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **«Условия, материалы и методы исследования»** подробно описаны объект, материал и методы исследования, использованные в ходе работы. Методы исследования в основном включали выделение культивируемых бактерий из отобранных для нашего исследования образцов растений и их хранение в коллекции, окрашивание бактериальных колоний и их сортировку по интенсивности окраски оптимизацию методов выделения ДНК из бактериальных изолятов, осуществлены амплификация ДНК методом ПЦР, а также проведение исследований с использованием гель-электрофореза; проведена молекулярная идентификация на основе секвенирования гена 16S рРНК биохимических методов. Использовались методы анализа полученных результатов с помощью биоинформатической программы и сравнения результатов секвенирования гена 16S рРНК образцов бактерий с базой данных NCBI на основе программы BLAST. Исследования проводились в лаборатории “Биоресурсы и стрессовая биология” Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз.

В третьей главы диссертации **«Молекулярно-филогенетический анализ изолятов бактерий, обладающих антагонистическими свойствами против фитопатогенных грибов»** разработан дизайн исследования с целью выделения изолятов бактерий из образцов растений, собранных из различных регионов Узбекистана, и проведения на них морфологических, фитопатологических и биохимических исследований. Образцы растений, собранные из различных сред и экологических климатических зон Узбекистана, были измельчены и инкубированы в фосфатно-солевом буфере в стерильных условиях, а затем разведены до степени  $10^7$ . На питательной среде образовавшиеся бактериальные колонии отбирались методом рандомизации с учётом их морфологического состояния, цвета, размера и структуры. Отобранные и выделенные чистые культуры колоний бактерий высевали на питательный агар для хранения в коллекции. Чистые культуры первоначально высевали в чашки Петри в соотношении 1/24. Затем для сохранения и предотвращения риска загрязнения в последующих исследованиях использовались отдельные чашки Петри для каждого изолята бактерий (см. рис. 1). Всего из видов растений, произрастающих в различных агроэкологических зонах Узбекистана, было

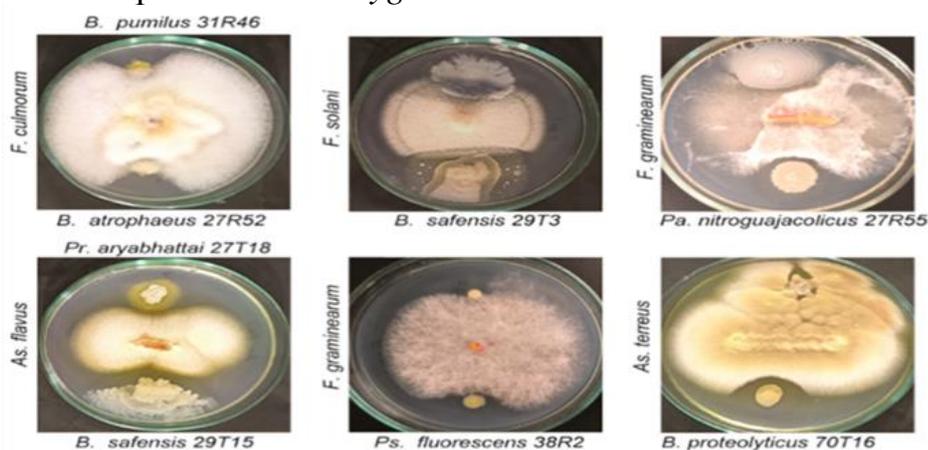
выделено 3328 бактериальных изолятов, в том числе 1896 образцов из корней и 1459 образцов из стеблей.



**Рис. 1. Морфологическая характеристика чистых бактериальных культур, выделенных из растительных образцов.**

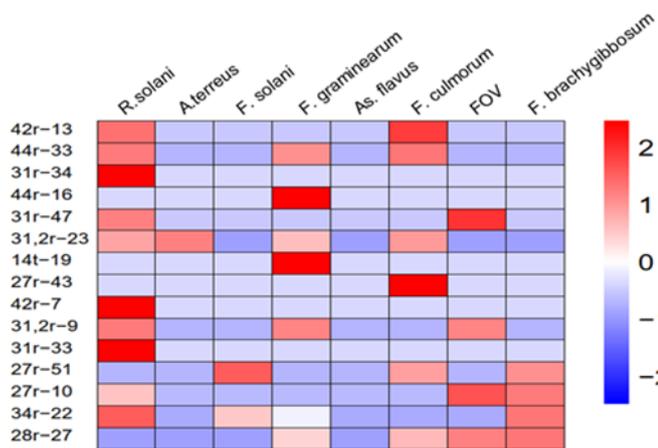
Была проведена предварительная статистическая обработка данных по интенсивности окраски колоний образцов. В ходе исследования были изучены антагонистические свойства изолятов бактерий против патогенных грибов и проведен статистический анализ на основе полученных результатов. Взаимосвязь видов бактерий-антагонистов по отношению к видам растений была объяснена путем анализа распределения видов.

Выделенные бактериальные изоляты были протестированы *in vitro* на антагонистическую активность против фитопатогенных грибов, таких как *Rh. solani*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. brachygibbosum*, *F. oxysporum f. sp. vasinfectum*, *A. terreus* и *A. flavus*. Из 3328 выделенных изолятов 432 продемонстрировали высокую антагонистическую активность. Среди бактериальных изолятов 66R-12,13,29,32; 27R-49,51,52,53,54,55,56; 42R-13,14,16; 27T-18,20; 66R-19 и другие проявили различную степень антагонистических свойств против патогенов растений (см. рис. 2). При исследовании антифунгальной активности общего числа 3328 бактериальных изолятов, выделенных из растительных тканей, из 432 изолятов бактерий-антагонистов было зарегистрировано следующее количество бактерий, проявивших антифунгальную активность: 225 против *Rh. solani*, 4 против *A. terreus*, 30 против *F. solani*, 10 против *A. flavus*, 99 против *F. graminearum*, 148 против *F. culmorum*, 99 против *FOV* и 32 против *F. Brachygibbosum*.



**Рис. 2. Бактериальные изоляты с антифунгальной активностью против фитопатогенных грибов**

Бактериальный изолят *B. atrophaeus* 66T1 проявил сильное ингибирование (более 80%) против *F. graminearum* и *F. culmorum*; умеренно сильное (более 70%) против *R. solani* и *F. solani*; и 60% ингибирование против *A. flavus*. Также *B. velezensis* 27T16 показал сильное ингибирование (80%) против фитопатогенных грибов *F. solani*, *F. graminearum* и *A. flavus*; и 60-70% ингибирование против *Rh. solani* и *F. culmorum*. Изолят *B. atrophaeus* 28R2 проявил сильную антагонистическую способность (более 80% ингибирования роста мицелия) против четырех фитопатогенных грибов (*F. solani*, *F. culmorum*, *F. graminearum* и *A. flavus*). По отношению к четырем различным фитопатогенным грибам изолят *B. altitudinis* 31.2R-23 показал умеренное ингибирование (20%-70%); изолят *B. proteolyticus* 70T-16 - 30%-50%; изоляты *B. safensis* 29T-3 - 50%-80% и 27R-12 - в целом 30%-70% ингибирования. Наиболее слабую антагонистическую способность проявил изолят *B. spizizenii* 66T-32, продемонстрировав ингибирующий показатель 10% только по отношению к одному грибу - *F. culmorum* (см. рис. 3).



**Рис. 3. Тепловая карта, показывающая антифунгальную активность бактериальных изолятов против фитопатогенных грибов**

При исследовании испытанных грибов можно сделать вывод, что *R. solani* был наиболее восприимчив к бактериальному ингибированию, в то время как *A. terreus* и *F. solani* оказались толерантными. С целью оптимизации методов выделения ДНК из бактериальных изолятов были использованы четыре метода для тестирования. Сравнивая технологии выделения ДНК из активных изолятов, метод фенол: хлороформ был определен как наиболее оптимальный с точки зрения материальной эффективности и качественных показателей. Выделенные образцы бактериальной ДНК подвергались амплификации с использованием универсальных праймеров 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') и 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'). Продукты ПЦР были разделены методом капиллярного электрофореза в 1,5% агарозном геле и детектированы с помощью лазера, что позволило восстановить последовательность из файла электроферограммы. Полученные результаты были задокументированы для дальнейших исследований. Реакции секвенирования были проведены в Sangon Biotech (Шанхай, Китай) методом Сэнгера. Анализ данных выполнен с использованием программы SeqMan пакета DNASTAR Lasergene 7. Молекулярная идентификация проводилась на основе гена 16S рРНК. Уровень

чистоты и достоверности секвенс-файлов составил 96–99%. В результате было установлено, что бактериальные изоляты относятся к 3 отделам, 7 порядкам, 10 семействам, 18 родам и более чем 65 видам (см. рис. 4).

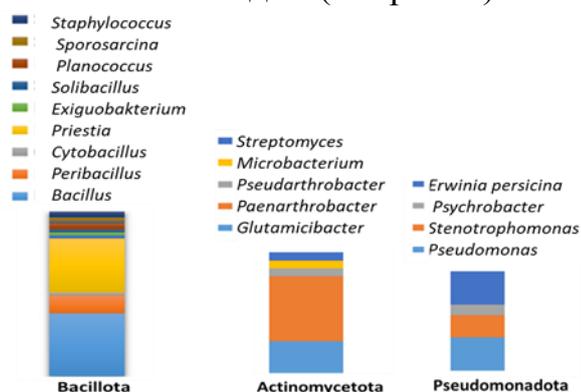
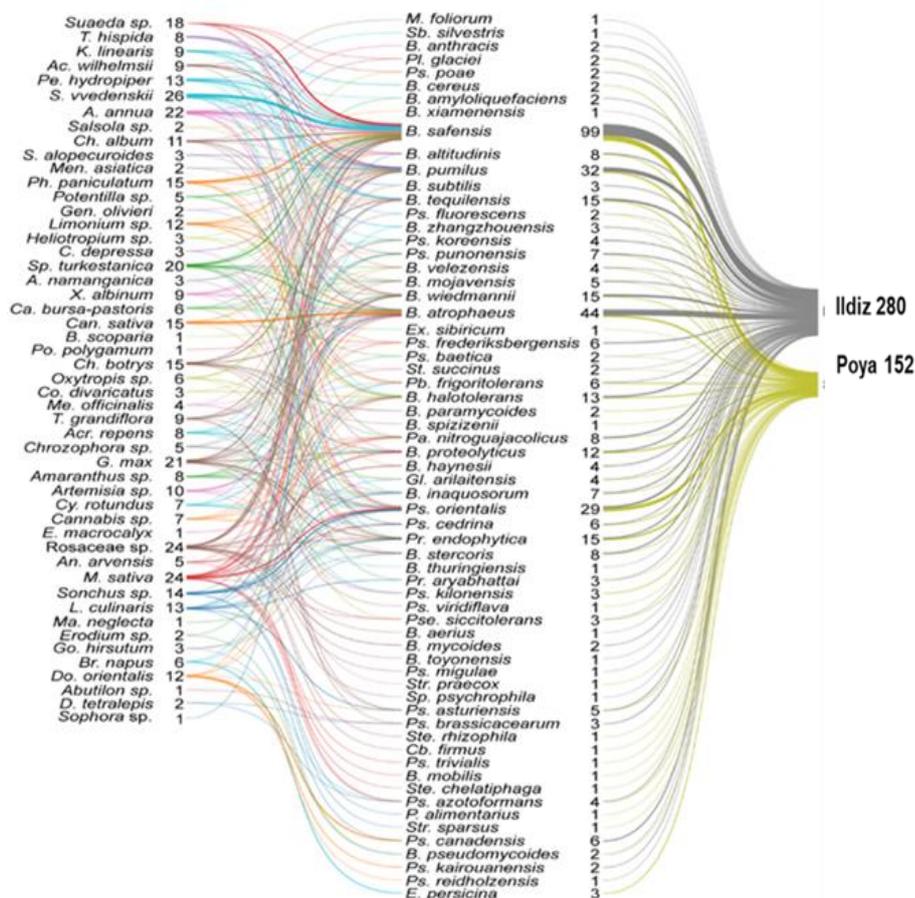


Рис. 4. Распределение бактериальных изолятов по отделам

Среди изученных бактерий самый большой класс составляют *Bacilli*, формирующие семейство *Bacillaceae*. Эти семейства, в свою очередь, подразделялись на более мелкие таксономические единицы. Среди них по видовому разнообразию доминировал род *Bacillus* (26). Анализ видов показал следующее распределение: *B. aerius* – 1, *B. altitudinis* – 8, *B. amyloliquefaciens* – 2, *B. cereus* – 4, *B. atrophaeus* – 44, *B. halotolerans* – 14, *B. haynesii* – 4, *B. inaquosorum* – 7, *B. mobilis* – 1, *B. mojaviensis* – 5, *B. mycoides* – 2, *B. paramycoides* – 2, *B. proteolyticus* – 12, *B. pseudomycoides* – 2, *B. pumilus* – 32, *B. safensis* – 99, *B. spizizenii* – 1, *B. stercoris* – 8, *B. subtilis* – 3, *B. tequilensis* – 15, *B. thuringiensis* – 1, *B. toyonensis* – 1, *B. velezensis* – 4, *B. wiedmannii* – 15, *B. xiamenensis* – 1, *B. zhangzhouensis* – 3 образца. Согласно этому, среди представителей рода *Bacillus* самую многочисленную группу составил вид *B. safensis*, а наименьшую, состоящую из одного изолята, - вид *B. aerius*.

При классификации по видам растений было установлено, что изоляты относятся к 22 семействам, 40 родам и более чем 50 видам. В подразделе, названном "Анализ распределения антагонистических бактериальных видов по видам растений", рассматривалась симбиотическая связь между бактериями и растениями в зависимости от частоты их выделения. Согласно результатам анализа, наибольшее количество антагонистических бактерий (всего 26, включающих девять различных видов) было обнаружено у *S. vvedenskiy*. Напротив, наименьшее количество — только один бактериальный вид — выделено у растений *B. scoparia* (*B. atrophaeus*), *E. macrocalyx* (*Paenarthrobacter nitroguajacolicus*), *M. neglecta* (*Priestia endophytica*), *Po. polygamum* (*B. atrophaeus*), *Sophora sp.* (*B. altitudinis*) (см. рис. 5). Доминирование растения *S. vvedenskiy* по числу ассоциированных бактериальных видов предположительно связано с их способностью выживать в условиях различных абиотических стрессов (засуха, высокая температура, засоление и др.). Согласно статистическим анализам, среди бактериальных видов, обладающих наиболее широкой симбиотической связью с разнообразными растительными видами и стимулирующих их рост, выделяется вид *B. safensis*. Он является наиболее распространённым бактериальным видом, выделенным из 27 различных видов

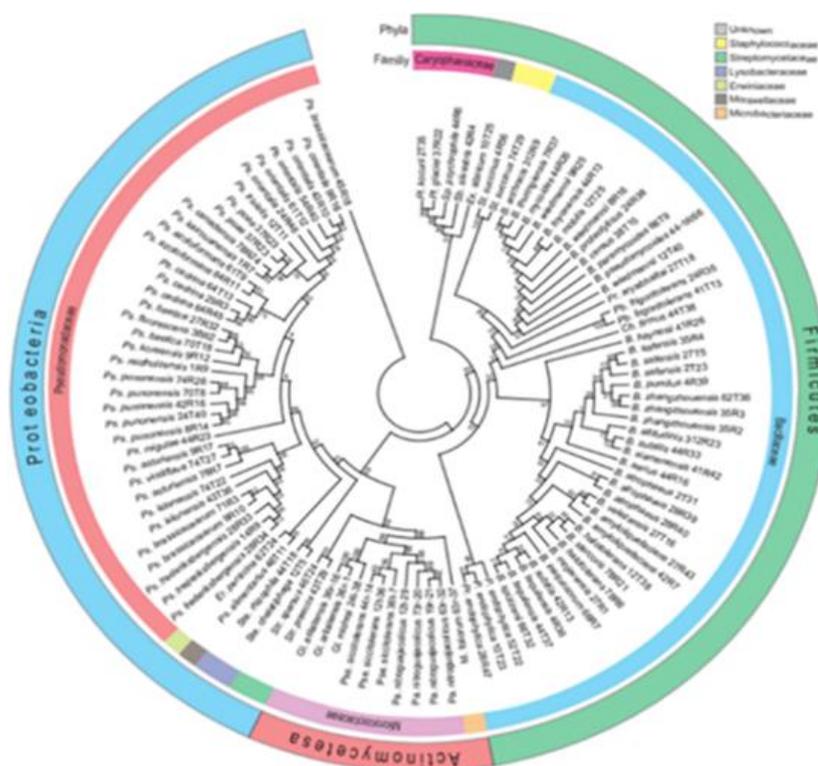
растений. Кроме того, у четырнадцати видов растений были обнаружены уникальные бактериальные виды, которые не встречались у других растений (см. рис. 5).



5-рис. Распределение антагонистических бактерий по видам растений и их органам.

Анализ бактерий по органам растений выявил 280 изолятов из корней и 152 изолята из стеблей, что свидетельствует о большем распространении антагонистических бактерий именно в корнях. Среди антагонистических бактерий всего обнаружено 21 вид, из которых 9 видов, относящихся к роду *Bacillus* – *Bacillus aerius*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. haynesii*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. toyonensis*, *B. xiamenensis* – были найдены только в корнях. Напротив, 17 видов – в том числе *Bacillus cereus*, *B. mobilis*, *B. paramycoides*, *B. spizizenii*, *Cohnella firmus*, *Erwinia persicina*, *Ex. sibiricum*, *Gl. mishrai*, *pl. kocurii*, *Ps. kilonensis*, *Ps. trivialis*, *Ps. viridiflava*, *Psy. alimentarius*, *Ste. chelatiphaga*, *Ste. rhizophila*, *Str. praecox*, *Str. sparsus* – были идентифицированы в стеблевых частях растений.

В разделе “Филогенетическая взаимосвязь антагонистических бактерий, выделенных из растений” молекулярная идентификация последовательностей нуклеотидов гена 16S рРНК показала, что наибольшими доминирующими отделами являются *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Actinomycetota*. При анализе на уровне семейств крупные группы бактерий составили *Pseudomonadaceae*, *Caryophanaceae*, *Micrococcaceae*, *Streptomycetaceae*, *Staphylococcaceae*, *Lysobacteraceae*, *Microbacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Moraxellaceae* (см. рис. 6).



**Рис. 6. Филогенетическая взаимосвязь антагонистических бактерий, выделенных из растений**

На рисунке А в круговой диаграмме представлены таксономические единицы - отделы и семейства бактерий. Эволюционная история реконструирована методом максимального правдоподобия с использованием модели Tamura-Nei. Показано дерево с наибольшим значением логарифма правдоподобия (-15874,16).

На рисунке В представлена филогенетическая схема изолятов бактерий рода *Bacillus*, включающая 26 видов, идентифицированных на основе молекулярного анализа. По результатам филогенетического анализа представители рода *Bacillus* разделены на 3 клад, каждая из которых характеризуется высокими значениями бутстреп-поддержки, что свидетельствует о высокой степени достоверности группировки.

Так, виды рода *Peribacillus* и *Cytobacillus* располагаются на близких ветвях с видом *B. aerius*, что указывает на их близкое эволюционное родство с представителями *Bacillus*. Значения бутстреп-поддержки для этого кластера составляют 96–99, что подтверждает сильную группировку. Виды *B. pseudomycoides* и *B. spizizenii* образуют единую кладу на соседних ветвях, а их значения бутстреп-поддержки равны 99, что свидетельствует о крайне близком эволюционном расстоянии между ними. В следующем подразделе данной главы приведены результаты анализа мутационной изменчивости, возникающей в результате вариаций в нуклеотидных последовательностях бактерий. Геномные изменения могут происходить по различным причинам, включая точечные мутации, гомологическую рекомбинацию и различия в составе генома. Точечные мутации обуславливают появление полиморфизма отдельных нуклеотидов (SNP). На основе сравнения нуклеотидных последовательностей и анализа SNP

у бактериальных изолятов получены результаты, подтверждающие наличие мутационных процессов.

Из 4 бактериальных изолятов, принадлежащих к виду *B. velezensis*, было изучено последовательность нуклеотидов 16S рРНК по SNP. В результате установлено, что у изолята *B. velezensis* 37r-7 на позиции 79 аденин (A) заменён на тимин (T), а на позиции 147 цитозин (C) заменён также на тимин (T), вследствие чего произошёл однонуклеотидный полиморфизм (SNP). Данное изменение свидетельствует о наличии трёх аллелей - A, C и T. Анализ по методу максимального правдоподобия (MLE) показал вероятность возникновения мутаций между нуклеотидами: аденином (A), тимином (T), гуанином (G) и цитозином (C) (см. рис. 7).

```

73r_1X0 AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTGGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGGCTT 174
37r_7X1 AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTGGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGGCTT 180
*****
PRIM.CONS.AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGT2TGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGGCTT

73r_1X0 CCACGAGAGTTTGTAAACCCGGAAGTCGGTGAGGTAACCTTAGGAGCCAGCCGCCGAA 1434
37r_7X1 CCACGAGAGTTTGTAAACCCGGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTagGAGCCAGCCGCCGAA 1440
*****
PRIM.CONS.CCACGAGAGTTTGTAAACCCGGAAGTCGGTGAGGTAACCTT2TAGGAGCCAGCCGCCGAA

```

Рис. 7. Анализ SNP у изолятов *B. velezensis*

Каждое из приведённых ниже значений показывает скорость замены одного нуклеотида на другой, то есть эта единица отражает количество мутаций на один нуклеотид за одно поколение (цикл репликации) (число мутаций / нуклеотид / поколение). При анализе по азотистым основаниям установлено, что скорость мутаций у пиримидиновых оснований (T/U, S) выше по сравнению с показателями мутаций у пуриновых оснований (A, G). Кроме того, скорость замены из гуанина в аденин и из аденина в гуанин равна 0,00, при этом между T(U) и G также не наблюдалось никаких замен нуклеотидов (см. рис. 8).

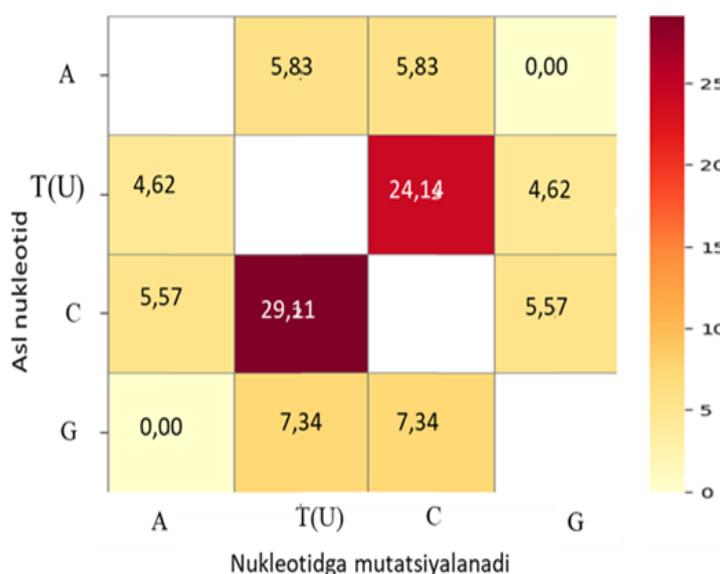


Рис. 8. Матрица замен нуклеотидов, оценённая на основе MLE у изолятов *B. velezensis*

Скорость замены нуклеотидов между Т(У) и А в среднем составила: из Т(У) в А — 5,83, из А в Т(У) — 4,62, что свидетельствует о наличии вероятности мутационных замен между данными нуклеотидами.

Таблица 1

Общая оценка вероятности мутационных изменений каждого нуклеотида (в процентах)

	А	Т(У)	С	Г
А	0	45.34	54.66	0
Т(У)	13.79	-	68.82	17.3
С	15.63	64.68	-	19.68
Г	0	45.34	54.66	-

В приведённой выше таблице видно, что вероятность мутации нуклеотида А в Т(У) составляет ~45,3%, в С — ~54,7%, а в Г — 0%. При замене нуклеотида Т(У) на С вероятность мутации является наивысшей — ~68,8%. Вероятность замены Г на А равна 0%. Данные анализы играют важную роль при построении филогенетического древа изолятов бактерий *B. velezensis* и оценке их эволюционных взаимоотношений. Согласно результатам, изоляты *B. velezensis* 73r-1 и 56t-18 расположены в одном кладе, что указывает на их близкое происхождение, тогда как изоляты 27t-16 и 37r-7 происходят из различных клад. На основе частоты наблюдаемых замен нуклеотидов у изолятов *B. velezensis* можно сделать следующие выводы: А → Г: 0 → замены аденина на гуанин происходят крайне редко или вовсе отсутствуют. А → Т: 4, 62; А → С: 5,57 → аденин может мутировать в тимин или цитозин, но вероятность этих замен низкая. Т → С: 29, 11; С → Т: 24,14 → данные мутации относятся к типу транзиции, то есть замены внутри одной группы оснований: пурин ↔ пурин (А ↔ Г) или пиримидин ↔ пиримидин (С ↔ Т). Такие мутации, как правило, происходят чаще, чем трансверсии. Таким образом: транзиции (С ↔ Т и А ↔ Г) встречаются чаще, трансверсии (пурин ↔ пиримидин, например А ↔ С, А ↔ Т) наблюдаются реже. Большие числовые значения в таблице (например, 29,11 и 24,14) указывают на то, что вероятность мутаций в данном направлении значительно выше. Изолят 37r-7 был выделен из растения, произрастающего в пустыне Муборак Кашкадарьинской области. Для пустынных регионов характерны: высокая изменчивость температуры, низкая влажность, а также вероятность повышенного содержания солей или тяжёлых металлов. Подобные факторы являются стрессовыми условиями, которые могут служить стимулом для возникновения мутаций у бактерий.

Виды изолятов *Bacillus velezensis* изучались также у изолятов, относящихся к видам *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii*, *B. tequilensis*, *B. stercoris*. Согласно результатам: *B. atrophaeus* изолятов 28r-27 и 43r-29 в 16-м локусе нуклеотида тимин (Т) заменился на цитозин (С); изолята 12t-35 в 65-м локусе нуклеотида произошла замена гуанина (G) на цитозин (С), что связывается с их географическим расположением. *B. wiedmannii* изолята 8r-16 наблюдались замены в последовательности нуклеотидов на позициях 451, 486 и 503. В частности: в локусе 451 аденин (А) заменился на цитозин (С), в позиции 486

цитозин (С) - на тимин (Т), в позиции 503 цитозин (С) - на гуанин (G). У изолята *B. wiedmannii* 12t-40 выявлены изменения в последовательности сразу в нескольких локусах нуклеотидов. Кроме того, у *B. stercoris* изолята 42r-13 было установлено отличие от других изолятов данного вида за счёт замен в трёх локусах нуклеотидной последовательности.

В четвёртой главы диссертации под названием «**Ферментативная активность бактерий и их роль в биоконтроле**» представлены результаты исследований, направленных на выявление ферментативной активности бактерий. Растительные бактерии были протестированы на биохимическую активность в отношении таких ферментов с высокой функциональной активностью, как протеаза, липаза, целлюлаза, глюканаза, целлобиаза и ксиланаза (см. рис. 9).



**Рис. 9. Ферментативная активность антагонистических бактерий**

Среди родов бактерий виды *Bacillus* проявили наибольшую активность протеазы, целлюлазы и липазы, значительно превосходя другие таксоны по данным ферментативным функциям. Согласно полученным результатам, изоляты бактерий *B. atrophaeus* 74t-11, *B. amyloliquefaciens* 27r-43, *B. altitudinis* 46t-12, *B. halotolerans* 78r-6, *B. 46r-45*, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 32r-9, *B. safensis* 54t-10, 37r-15, *B. stercoris* 7r-9, *B. subtilis* 31r-34, *B. tequilensis* 38r-17, 41r-7, *B. wiedmannii* 27r-47, *B. xiamenensis* 41r-42 проявили активность сразу по трём ферментам: глюканазе, целлобиазе и ксиланазе.

Среди изолятов бактерий *B. altitudinis* 31r-35, *B. mojavensis* 9r-29, *B. pumilus* 44r-29, *B. safensis* 54t-10, 38t-20, 41r-18, 41r-28, 44t-26, *B. stercoris* 7r-9, *B. tequilensis* 38r-17 показали активность по всем шести ферментам: протеолитическому, целлюлолитическому, липолитическому, глюканазе, целлобиазе и ксиланазе. Изоляты бактерий *B. aerius* 44r-16, *B. altitudinis* 46t-12, *B. atrophaeus* 7r-42, 4r-51, *B. cereus* 38t-15, *B. halotolerans* 44r-24, *B. pumilus* 63r-14, 28r-36, 25t-49, *B. safensis* 63r-25, 10r-15, 38r-16, *B. tequilensis* 66r-14, *B. toyonensis* 44r-13, *B. velezensis* 37r-7, *B. wiedmannii* 7r1-20, *B. xiamenensis* 41r-42, *B. zhangzhouensis* 35r-3 и другие проявили ферментативную активность по четырём ферментам из группы: глюканаза, целлобиаза, ксиланаза, протеаза, липаза, целлюлаза. (см. рис. 10).

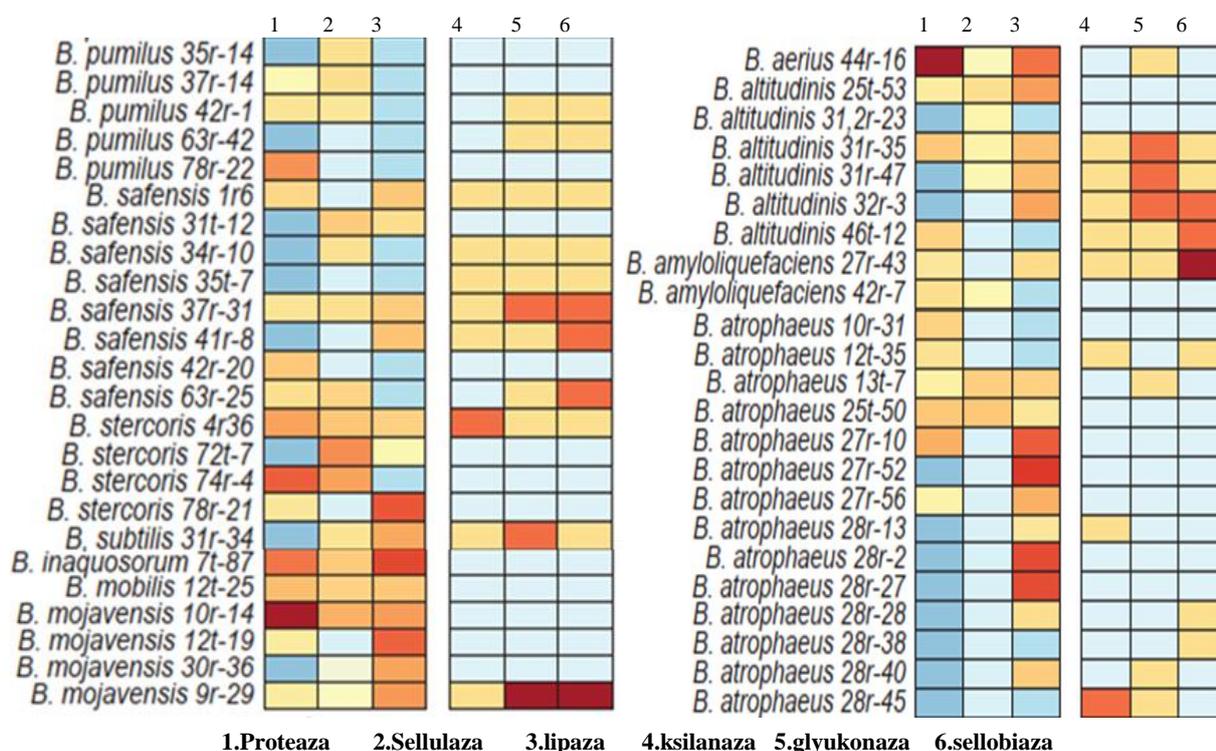


Рис.10. Ферментативные особенности активности антагонистических бактерий

Широкая энзиматическая активность данных штаммов свидетельствует о том, что они могут играть важную роль в уничтожении широкого спектра фитопатогенов и улучшении здоровья растений, что делает их перспективными кандидатами для применения в сельском хозяйстве. В ходе наших исследований из 432 антагонистических бактериальных изолятов, относящихся к роду *Bacillus*, 291 штамм проявил ферментативную активность: 181 штаммы или 62% обладали протеолитической активностью, 166 штаммы (57%) – целлюлолитической, 133 штаммы (46%) – липолитической, 111 штаммы (38%) – глюканазной, 66 штаммы (22%) – ксиланазной, 67 штаммы (23%) – целлюлолитической активностью.

В разделе диссертации, посвящённом инокуляции антагонистических бактерий на растения и оценке их защитной эффективности, проведены исследования по оценке роли антагонистических бактерий в качестве биоконтрольных агентов по отношению к пшенице, хлопчатнику и госсипиуму. Инокуляция через корневую систему против жёлтой ржавчины пшеницы: *Bacillus cereus* (24t-38), *B. atrophaeus* (27r-43), *B. halotolerans* (27t-18) и другие улучшили состояние растений от уровня S (восприимчивые) до MR (умеренно устойчивые). При обработке листьев путём опрыскивания изоляты *B. cereus* (27r-55), *B. mobilis* (12t-25), *B. zhangzhouensis* (62t-36) обеспечили защиту. Инокуляция через корни показала более сильный защитный эффект по сравнению с методом опрыскивания. Бактерии активировали иммунный ответ растений и эффективно подавляли воздействие патогенов. Следующее наше исследование было направлено на оценку влияния антагонистических бактерий против возбудителя вершинного увядания хлопка *Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum* (FOV). Было отобрано 32 бактериальных штамма с антагонистической активностью и оценено их влияние на устойчивость растений хлопка к заболеванию. Результаты показали, что средний рост здоровых

растений составил 73%. В лабораторных и вегетационных условиях было установлено, что бактерии с антагонистической активностью - в частности, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus proteolyticus* - значительно ограничивают рост колоний *FOV* и способствуют формированию полезной микрофлоры в зоне корней (ризосфере). Это, в свою очередь, активизирует естественную иммунную систему растений и препятствует проникновению и развитию патогена в тканях растения. В целом, антагонистические бактерии рассматриваются как перспективное и экологически безопасное средство биологической защиты хлопка от патогена *FOV*.

## ВЫВОДЫ:

1. Из растений, произрастающих в различных агроэкологических районах Узбекистана, было выделено 3328 бактериальных изолятов, включая 1869 из корней и 1459 из стеблей. Первичный анализ проведен с использованием морфологических методов.

2. Оптимизация метода выделения ДНК позволила провести молекулярную идентификацию изолятов, в результате которой установлено их принадлежность к 3 отделам, 7 порядкам, 10 семействам, 18 родам и более чем 40 видам. Доминирующим таксоном оказался род *Bacillus*.

3. Анализ изолятов на уровне семейства, рода и вида показал, что они относятся к 22 семействам, 40 родам и более чем 50 видам растений. С растения *Salsola vvedenskii* было выделено 26 антагонистических изолятов, что подтверждает богатство микробиоты данного растения антагонистическими бактериями.

4. Анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) выявил генетическую изменчивость среди изолятов: у *B. velezensis* 37r-7 – два SNP, у изолятов *B. atrophaeus* – один, у *B. wiedmannii* 8r-16 – три, у 12t-40 – пять, у *B. tequilensis* – один, у *B. stercoris* 42r-13 – три. Наличие SNP связано с экологической средой изолятов.

5. Антагонистическая активность *in vitro* была оценена против фитопатогенных грибов: *Rh. solani*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. brachygibbosum*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *A. terreus*, *A. flavus*. Из 432 высокоантагонистических изолятов были выделены: *B. atrophaeus* 66T1, *B. velezensis* 27T16, *B. atrophaeus* 28R2, *B. altitudinis* 31.2R-23, *B. proteolyticus* 70T-16, *B. safensis* 29T-3.

6. Ферментативная активность показала, что из 291 изолята рода *Bacillus*: 181 – протеолитическая, 166 – целлюлолитическая, 133 – липолитическая, 111 – глюконазная, 66 – ксиланазная и 67 – селлобиазная активность. Изоляты *B.*

*altitudinis*, *B. mojavensis*, *B. pumilus*, *B. safensis*, *B. stercoris*, *B. tequilensis* проявили активность ко всем шести ферментам.

7. Изоляты, отобранные по биологической, молекулярной и ферментативной активности (*B. mojavensis*, *B. cereus*, *B. cereus*, *B. safensis*, *B. halotolerans*, *B. atrophaeus*, *B. pumilus*) повышали сопротивляемость растений патогенам, способствовали формированию полезной микрофлоры в ризосфере и рекомендованы в качестве эффективных биоконтрольных агентов.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.02/30.12.2019.B.53.01 ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREES AT THE INSTITUTE OF GENETICS AND PLANT EXPERIMENTAL BIOLOGY**

---

**INSTITUTE OF GENETICS AND EXPERIMENTAL PLANT BIOLOGY**

**MUKHLISA KOMILOVNA SHODMONOVA**

**IDENTIFICATION OF THE MOLECULAR GENETIC BIODIVERSITY OF ANTAGONISTIC *BACILLUS* SPECIES AGAINST PATHOGENIC FUNGI**

**03.00.03 – Molecular Biology, Molecular Genetics, Molecular Biotechnology**

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

**TASHKENT – 2025**

**The title of Doctor of Philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Ministry of Higher Education, Science, and Innovations of the Republic of Uzbekistan with the registration number B2025.1.PhD/B1365.**

The dissertation has been carried out at the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology  
The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, and English (resume)) was uploaded on the website of the Scientific Council ([www.genetika.uz](http://www.genetika.uz)) and on the website of «ZiyoNet» Information and education portal ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz))

**Scientific supervisor:** **Bozorov Tohir Ahmadovich**  
Doctor of Biological Sciences, senior researcher

**Official opponents:** **Dolimova Dilbar Akbarovna**  
Doctor of Biological Sciences, Professor

**Yakubov Iskandar Taxirovich**  
Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

**Leading organization:** **Institute of Microbiology**

The defense of the dissertation will take place on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 \_\_\_\_ at the meeting of the Scientific Council DSc.02/30.12.2019.B.53.01 at the Institute Genetics and Plant Experimental Biology (Address: 111208, Tashkent region, Kibray district, Yuqori-yuz. 266 Conference hall of the palace of the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology. Tel.: (+99871) 264-23-90; fax (+99871) 264-23- 90; E-mail: [igebr@academy.uz](mailto:igebr@academy.uz), [igebr\\_anruz@mail.ru](mailto:igebr_anruz@mail.ru), [genetika@exat.uz](mailto:genetika@exat.uz)

The dissertation is registered in the Information-resource Centre of the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology (with registration №\_\_\_\_where can be familiarized in the Informational Resource Centre. Address:111208, Tashkent region, Kibray district, Yuqori-yuz 266. Tel: (+99871) 264-23-90;

The abstract of the dissertation sent out on «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 y.  
Protocol at the register №\_\_\_\_\_dated «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 y.

**A.A. Narimanov**  
Chairman of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of agricultural sciences, professor

**I.Dj. Kurbanbaev**  
Scientific Secretary of the Scientific Council for awarding of scientific degrees, Doctor of biological sciences, professor

**I.T.Qahhorov**  
Chairman of the Scientific Seminar under Scientific Council for awarding scientific degrees, Doctor of agricultural sciences, professor

## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the research work** is to study the molecular-genetic diversity of bacteria belonging to the genus *Bacillus* in plant samples collected from various agroecological regions of Uzbekistan and their antagonistic properties against phytopathogenic fungi, as well as to assess the possibilities of their use as a biocontrol agent in agriculture.

**The object of the research** is bacteria belonging to the *Bacillus* genus isolated from plant samples (roots, stems) collected from various agroecological regions of Uzbekistan, and phytopathogenic fungi that damage agricultural crops.

**The scientific novelty of the research is as follows:**

for the first time, an in-depth analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) of the 16S rRNA gene in bacteria of the genus *Bacillus* was conducted, revealing mutational variability in the species *B. velezensis*, *B. atrophaeus*, *B. wiedmannii* and *B. stercoris*. The connection between this genetic diversification and geographical and environmental factors was scientifically substantiated;

out of 3328 bacterial isolates obtained from various agroecological regions of Uzbekistan, 432 were found to possess high antagonistic activity. Through 16S rRNA gene sequencing and SNP profile analysis, the taxonomy of more than 26 *Bacillus* species was determined;

among the bacteria isolated from plant tissue, the genus *Bacillus* was identified as the most dominant group, with *B. safensis*, *B. atrophaeus*, and *B. pumilus* emerging as the most prevalent species at the species level;

the antagonistic properties of bacteria belonging to the genus *Bacillus* against phytopathogenic fungi such as *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., and *Aspergillus* spp. were systematically studied under in vitro conditions. Out of 432 strains, 225 showed high inhibition rates (60-80%) against *Rh. solani*, 148 against *F. culmorum*, 14 against *Aspergillus* spp., and others against various pathogens;

phylogenetic analysis based on the 16S rRNA gene allowed the division of *Bacillus* species into three main clades, and a close evolutionary phylogeny of *B. aerius*, *B. pseudomycoides*, and *B. spizizenii* was developed;

as a result of the research, strains producing industrially important enzymes such as protease, cellulase, lipase, xylanase, glucanase, and cellobiase were isolated from isolates with high enzymatic activity.;

the bacterial strains *B. inaquosorum*, *B. mojaviensis*, *B. proteolyticus*, *B. safensis*, *B. halotolerans*, *B. atrophaeus* and *B. pumilus*, selected based on their biological activity, molecular characterization and enzymatic properties, have been found to be effective as promising biocontrol agents;

it has been found that the possibility of increasing resistance to yellow rust, fusarium and wilt diseases by up to 45-50% by inoculating selected bacteria of the *Bacillus* genus into wheat, pea and cotton plants has been identified.

**Implementation of the research results.** Based on the scientific results obtained in determining the molecular-genetic biodiversity of antagonist *Bacillus* species against pathogenic fungi, pure cultures of *Bacillus* isolates with antagonistic properties (*Bacillus cereus*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus mobilis*, *Bacillus thuringiensis*)

collected from different agro-ecological regions of Uzbekistan were deposited in the gene pool of the “Phytopathogenic and Other Microorganisms” Unique Object Collection at the Institute of Genetics and Experimental Plant Biology (Certificate №4/1255-1521, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, June 20, 2025). As a result, the gene pool of the bacterial strain collection was enriched, providing opportunities for the use of bacterial species diversity.

Based on the results of species sequencing using the 16S rRNA gene of bacterial isolates belonging to the genus *Bacillus*, the bacterial strains were registered in international databases - NCBI (National Center for Biotechnology Information of the USA), EMBL-EBI (European Nucleotide Archive, United Kingdom, Cambridge) and DDBJ (DNA Data Bank of Japan) platforms under the identification numbers PV653545, PV653526, PV653521, and PV653522 (NCBI - National Center for Biotechnology Information of the USA, data as of 19.05.2025; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/PV653545>). As a result of this registration, the international database was enriched, and the opportunity for studying *Bacillus* species on a global scale was created.

**The structure and scope of the dissertation.** The dissertation consists of an introduction, four chapters, conclusions, a list of references, a list of symbols and terms, and appendices. The total volume of the dissertation is 113 pages.

**E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I-bo'lim (I часть; Part I)**

1. Shodmonova M.K., Muhammadova D.A., Aytenov I.S., Isokulov M.Z., Bozorov T.A., Zhang, D., Abduraimov O.S., Murodova S.M., Melikuziev F.A. Ochilov B.O. "Diversity of Anti fungal Properties in Bacterial isolates from Different Plant Species Growing Across Uzbekistan" *Microorganisms*, 13(5), 11 61: 2025, <https://doi.org/10.3390/microorganisms13051161>.

2. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. "Biochemical characteristics of xylanase-producing bacillus species belonging to the genus *Bacillus*". *Research and education*, 2024, 3(9), 10-13.

3. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. "O'simliklardan ajratib olingan *Bacillus* turkumiga mansub bakteriya izoyatl arning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish" *O'zMU xabarlar* 2024. -B. 133-135.

4. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. Vaisova D.B. "O'simlik rezosferasidan ajratib olingan bakteriya izolatlarining patogen zamburug'lariga qarshiantagonistlik xususiyatlarini o'rganish" *Xorazm Ma'mun akademiyasi axborotnomasi*, 2024-9/1. — B. 144-148.

**II-bo'lim (II часть; Part II)**

5. Шодмонова М., Бозоров Т. "Противогрибковые свойства эндофитных бактерий растений" *Материалы IV Международной Научно-Практической Конференции "Фундаментальные И Прикладные Аспекты Микробиологии В Науке И Образовании"* Рязань, 2025, С-89-90.

6. Шодмонова М., Бозоров Т. "Ферментативный механизм растительных бактерий, выращиваемых в узбекистане, против фитопатогенных грибов" *Материалы IV Международной Научно-Практической Конференции "Фундаментальные И Прикладные Аспекты Микробиологии В Науке И Образовании"* Рязань, 2025, С-91-92.

7. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. "Proteolytic activity of endophytic bacteria" "Биофизика ва Биокимё муаммолари" - 2025 илмий конференция материаллари 23 май 2025 йил . Б 30

8. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. "Biochemical characteristics of xylanase-producing *Bacillus* species belonging to the genus *Bacillus*" "Коллоидная химия: инновации и решения для хемической технологий экологии и промышленности" *Международная научно-техническая конференция*, 7- 8 февраля 2025 г. Термез, С 961-964.

9. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. "Rizosfera bakteriyalarining gidrolitik ferment ishlab chiqarish faolligini o'rganish" O'simliklarni himoya qilishning innovatsion biotexnologiyalari: Yutuqlar Va Istiqbollari "Molekulyar biotexnologiya" ilmiy laboratoriyasining 55 yilligiga bag'ishlangan Respublika iuiqyosidagi ilmiy-amaliy anjumani materiallari Samargand-2025. B 515-516

10. Shodmonova M.K., Bozorov T.A., Murodova S. M., Isaqulov M.Z. “Mikroorganizmlar: *Bacillus* turkumi *Bacillus velezensis* shtamining biokimyoviy faolligi” “Qishloq xo‘jaligi ilmini rivajlantirishd ayollarning o‘rni” xalqaro ilmiy-amaliy konferensiyasi to‘plami. Fevral 11-12, 2024. — B. 149-153.

11. Shodmonova M.K., Bozorov T.A., Toshmatov Z.O. “ Bakterial selluloza – bioaktiv material” “Genetika, genomika va biotexnologiyaning zamonaviy muammolari” Respublika ilmiy anjumani to‘plami. 16- May 2024-y. -B. 231-233

12. Shodmonova M.K., Bozorov T.A., Toshmatov Z.O., Meliquziyev.F.A., Aytenov I.S., Isaqulov M.Z., “Mikroorganizmlarning b- glyukozidaza fermentiga nisbatan aktivlik reaksiyalari” Mikroorganizmlarning antibiotiklarga sezuvchanligining o‘zgarish sabablari va oqibatlariga” maqolalar to‘plami, Toshkent 2024. B. 815-820.

13. Shodmonova M.K., Bozorov T.A., Vaisova D.B. “*Bacillus subtilis* bakteriya shtammlarining biokimyoviy xususiyatlari” Genetika va O‘EB instituti “Biologiyaning jamiyatdagi ahamiyati” respublika ilmiy-amaliy konferensiyasi to‘plami. 20-21 sentabr.Toshkent -2024. - B. 50-52.

14. Shodmonova M.K., Bozorov T.A. “*Bacillus* turkumiga mansub bakteriyalarning biologik xususiyatlari” “Fan va innovatsiya” (Angren universiteti professor o‘qituvchilar va iqtidorli talabalar ilmiy va ilmiy- uslubiy maqolalari davriy to‘plamining 2-son) Toshkent-2023, B 107-110.

15. Shodmonova M.K., Bozorov T.A., Vaisova D.B. Isaqulov M.Z. “Enzyme activity characteristics of *Bacillus subtilis* bacteria isolates isolated from plants” “Замонавий органик кимё ютуклар, муаммолар, ечимлар” Респ. илм.-амал. конф. материаллари. Тошкент- 2024, 20-21 сентябрь, С 48.

Avtoreferat “O‘zbekiston agrar fani xabarnomasi”  
jurnali tahririyatida tahrirdan o‘tkazildi

Bosishga ruxsat berildi 13.12.2025. Bichimi (60x84) 1/16. Shartli bosma tabog‘i 2,75.  
Nashriyot bosma tabog‘i 2,75. Adadi 100 nusxa. Bahosi kelishilgan narxda.

---

O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti Adminstratsiyasi huzuridagi Axborot va ommaviy  
kommunikatsiyalar agentligining № 231049 sonli tasdiqnomasi asosida  
“**AGRAR FANI XABARNOMASI**” MChJ bosmaxonasida chop etildi.

