

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО И ВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

УЗБЕКСКИЙ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

УЗБЕКСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ХЛОПКОВОДСТВА

На правах рукописи
УДК 615.33:632.937

МАННАНОВ Рустам Нигматович

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ПОЧВЕННЫХ АНТАГОНИСТОВ
С НЕКОТОРЫМИ ФИТОПАТОГЕНАМИ, ВЫЗЫВАЮЩИМИ
ОСНОВНЫЕ БОЛЕЗНИ ХЛОПЧАТНИКА (ГОММОЗ, КОРНЕВАЯ
ГНИЛЬ, ФУЗАРИОЗ) И ПШЕНИЦЫ (КОРНЕВАЯ ГНИЛЬ)

06.01.11. – Защита растений

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Ташкент - 2010

А.И.Са

А.Х. Юсупович!
Таким образом
А

Работа выполнена на кафедре Сельскохозяйственной биотехнологии и фитопатологии Ташкентского Государственного аграрного университета.

Научный консультант: Академик АН РУз,
доктор биологических наук, профессор
АРИПОВ Тахир Фатыхович

Официальные оппоненты: Доктор сельскохозяйственных наук, профессор
ХОДЖАЕВ Шамиль Турсунович

Лауреат Государственной премии им. А.Р. Беруни,
доктор биологических наук, профессор
УМАРОВ Анвар Абдуллаевич

Доктор биологических наук
ХОДЖИБАЕВА Санобар Мирзаевна

Ведущая организация: Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз.

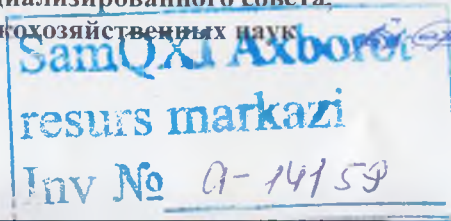
Защита состоится «28» декабря 2010 г. в «10⁰⁰» час. на заседании Разового Специализированного совета Д.020.44.01 при Узбекском научно - исследовательском институте хлопководства, по адресу: 111202, Ташкентская обл., Кибрайский р-н, пос. Аккавак, УзНИИХ. Тел.:142-22-35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Узбекского научно-исследовательского института хлопководства.

Автореферат разослан «25» ноября 2010г.

Ученый секретарь
Разового Специализированного совета,
доктор сельскохозяйственных наук

Халиков Б.М.



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Хлопчатник и пшеница являются основными сельскохозяйственными культурами в Республике Узбекистан. Не смотря на достигнутые успехи по их производству, нельзя останавливаться на достигнутом, как предусмотрено задачами, определенными в произведении Президента Республики Узбекистан И.А. Каримова – «прежде всего наращивание производства продовольствия, на которое всегда имеется устойчивый спрос» («Мировой финансово-экономический кризис, пути и меры по его преодолению в условиях Узбекистана », г.Ташкент, издательство «Узбекистан», 2009г.). Важным звеном в технологии возделывания этих культур является защита их от болезней, так как в условиях орошаемого земледелия часто создаются благоприятные условия для развития опасных заболеваний, значительно снижающих урожайность культур.

В настоящее время, в связи с возрастающей опасностью отрицательного воздействия применяемых химических средств защиты растений на здоровье человека и окружающую среду, внимание ученых направлено на поиск биологических средств борьбы с фитопатогенами. Оценка последних результатов по использованию биологических агентов для борьбы с фитопатогенами показывает, что биометод имеет большое будущее в сельском хозяйстве.

Основным препятствием к созданию экологически чистых биопрепаратов является недостаток знаний о биологии микробов-антагонистов и природы их взаимоотношений с фитопатогенными микроорганизмами. Поэтому, проведение исследований в данном направлении является актуальной научной задачей для решения практических проблем защиты растений от фитопатогенов.

Степень изученности проблемы. В республике основные проведенные научные исследования посвящены изучению химических мер борьбы с фитопатогенами, но информация по изучению биологических методов защиты хлопчатника и пшеницы от возбудителей болезней остается скудной.

Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР. Тема исследований диссертационной работы входит в тематический план НИР Ташкентского государственного аграрного университета, номер государственной регистрации 01.86.0108975.

Цель исследования. Основной целью данной научной работы является скрининг и комплексное биологическое изучение активных штаммов бактерий – антагонистов, а также исследование их взаимоотношений с возбудителями вредоносных болезней хлопчатника и пшеницы. Отобранные в результате данной работы штаммы бактерий и полученные сведения о механизмах их антагонистической активности предполагается использовать для разработки экологически безопасных биопрепаратов, снижающих поражаемость сельскохозяйственных культур вредоносными фитопатогенами, и повышающих их урожайность.

Задачи исследования:

1. Выделить и изучить биологические и патогенные свойства фитопатогенов;
2. Определить видовой состав микромицетов ризосферы больных и здоровых растений пшеницы;

3. Выделить и изучить биологические и патогенные свойства фитопатогенов;
4. Определить видовой состав микромицетов ризосферы больных и здоровых растений пшеницы;
5. Изучить антагонистическое действие отобранных антагонистов на возбудителей основных вредоносных болезней хлопчатника и пшеницы;
6. Изучить культурально - морфологические и физиолого - биохимические свойства штаммов активных антагонистов;
7. Выделить и изучить природу антибиотических веществ, продуцируемых изучаемыми антагонистами;
8. Изучить характер действия антибиотических веществ, продуцируемых антагонистами, на клетки фитопатогенов;
9. Изучить стимулирующее влияние антагонистов на всхожесть, рост, развитие и урожайность хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур;
10. Определить влияние антагонистов на полезную почвенную микрофлору - азотфиксирующие бактерии родов *Azotobacter* и *Rhizobium*;
11. Определить биологическую эффективность использования почвенных антагонистов для предпосевной обработки семян хлопчатника и пшеницы;
12. Разработать практическое предложение по технологии производства и применения биопрепарата с использованием отобранного антагониста.

Объект и предмет исследования. Изучались антагонистические взаимоотношения почвенных бактерий с бактериальными и грибными возбудителями болезней хлопчатника и пшеницы, влияние антагонистов на снижение заболеваемости культур фитопатогенами и повышение урожайности хлопчатника и пшеницы.

Методы исследования. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов изучали по методам и тестам, описанным в соответствующих руководствах по микробиологии (Егоров, 1976; Скворцова, 1984; *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 1974). Видовую принадлежность выделенных грибов использовали по М.А. Литвинову (1969); А.А. Милько (1974); В.И. Билай (1977); Н.М. Пидопличко (1977; 1978). Биологическую эффективность вычисляли по методике Дементьевой М.И. (1977). Статистическую обработку данных проводили по Доспехову В.А. (1985).

Гипотеза исследования. Предполагается, что использование почвенных бактерий-антагонистов в качестве агентов биологической защиты растений снижает поражаемость фитопатогенами, и значительно повышает продуктивность сельскохозяйственных культур. Эта гипотеза получила подтверждение в результатах проведенных исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Взаимоотношения почвенных антагонистов с фитопатогенными микроорганизмами;
- видовой состав микромицетов в ризосфере здоровой и пораженной корневой гнилью пшеницы;

- экологически безопасные меры борьбы с фитопатогенами хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур с использованием антагонистов.

Научная новизна. Впервые выявлена связь между культурой - предшественником и поражаемостью озимой пшеницы корневой гнилью в условиях Узбекистана. Доказана перспективность использования штамма *Bacillus subtilis* 23 для разработки эффективных, экологически безвредных биопрепаратов для защиты хлопчатника и озимой пшеницы от фитопатогенов. Получен ряд новых сведений об антагонистических взаимоотношениях почвенных антагонистов с грибными и бактериальными фитопатогенами, поражающими хлопчатник и озимую пшеницу в условиях Узбекистана. Определены природа и характер токсического действия антибиотических веществ, продуцируемых штаммом *B. subtilis* 23. Установлено отсутствие отрицательного воздействия антагонистов на полезную почвенную микрофлору. Определен видовой состав микобиоты ризосферы здоровой и пораженной корневой гнилью озимой пшеницы. Настоящая диссертационная работа отражает цикл научных исследований, необходимых для рекомендации микробов - антагонистов к производству биопрепаратов для биологической защиты растений от фитопатогенов.

Научная и практическая значимость результатов исследований. Полученные результаты позволили разработать практическое предложение по технологии производства и применению эффективного и экологически чистого биопрепарата с использованием изученного антагониста *Bacillus subtilis* 23.

Реализация результатов. Для внедрения в сельском хозяйстве разработана технология производства и применения биопрепарата с использованием изученного антагониста *B. subtilis* 23. Биопрепарат рекомендовано применять способом предпосевной или заблаговременной (за 1-1,5 месяца) обработки семян со следующей нормой расхода: 1) предпосевная обработка: 3.0 - 4.0 кг на тонну семян; 2) заблаговременная обработка: 0.5-1.0 кг на тонну семян.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены и опубликованы в виде тезисов на 7-м Международном симпозиуме: «Микробиологии филлосферы» (США, 2000); Республиканской научно-практической конференции: «Научные основы развития сельского хозяйства» (Ташкент, 2001); 11-том Международном конгрессе Средиземноморского фитопатологического общества (Португалия, 2001); 15-ом Международном форуме Прикладной биотехнологии (Бельгия, 2001); 5-ой Республиканской научной конференции: «Узбекистон Мустакиллиги – Унинг Фани ва Технологияларини Ривожлантириш Кафолати» (Ташкент, 2001); 7-м Международном Микологическом конгрессе (Норвегия, 2002); 17-ом Международном конгрессе по исследованиям почвы (Таиланд, 2002); Международной научно-практической конференции: «Аграр Фани Ютуқлари ва Истикболлари» (Ташкент, 2002); Международной научно-практической конференции: «Ўза ва кузги бугдойни парваришлаш агротехнологияларини такомиллаштириш» (Ташкент, 2002); Международной научно-практической конференции: «Углубление интеграции образования, науки и производства в сельском хозяйстве Узбекистана»

(Ташкент, 2003); Научно-практической конференции, посвященной памяти Аскаровой Салимы Аскаровны: «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии» (Ташкент, 2003); Научно-практической конференции: «Аграрная наука и образование: актуальные проблемы и перспективы развития» (Ташкент, 2004); 6-ом Международном симпозиуме по химии природных соединений (Турция, 2005); 3-м Съезде Микробиологов Узбекистана (Ташкент, 2005); 8-ом Международном Микологическом конгрессе (Австралия, 2006); Научно-практической конференции «Еш олимлар – кишлок хужалиги фани ва амалиетини юксалтиришда етакчи куч» (Ташкент, 2008); 10-той Международной конференции: «Биологическая защита растений от грибных и бактериальных патогенов» (Швейцария, 2008).

Опубликованность результатов. По материалам диссертации опубликованы 39 печатных работ, из которых: 1 обзорная статья, 17 журнальных публикаций, 3 статьи в сборниках научных трудов и 18 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, экспериментальной части, состоящей из 5 разделов с изложением полученных результатов и их обсуждением, заключения, выводов, списка использованной литературы и приложений. Работа изложена на 210 страницах машинописного текста, содержит 40 таблиц и 29 рисунков. Список литературы включает 316 источников, опубликованных в Республиканских и зарубежных изданиях.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данной главе приведен анализ современного состояния проблемы по разработке биологических методов защиты сельскохозяйственных растений от фитопатогенных микроорганизмов с использованием природных антагонистов.

Глава II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе приведен перечень штаммов бактерий-антагонистов и фитопатогенных микроорганизмов использованных при выполнении данной работы. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов изучали по общепринятым методам и тестам, описанным в соответствующих руководствах по микробиологии (Егоров, 1976; Скворцова, 1984; Bergey's manual of determinative bacteriology, 1974).

Полевые опыты проводили в фермерских хозяйствах «BO'Z-SUV BIOZERNO» и «SOF TABIAT AGRO» Зангиатинского района Ташкентской области. Изучение фитотоксических свойств грибов проводили методом биопроб на семенах и растениях (Билай, 1985). Для определения видовой принадлежности выделенных грибов использовали определители М.А. Литвинова (1969); А.А. Милько (1974); В.И. Билай (1977); Н.М. Пидопличко (1977; 1978). Биологическую

эффективность вычисляли по методике Дементьевой М.И. (1977). Статистическую обработку данных проводили по Доспехову В.А. (1985).

Глава III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Раздел I. Распространение, вредоносность и биологические свойства некоторых фитопатогенов хлопчатника и пшеницы в условиях

орошаемого земледелия

Патогенные и вирулентные свойства изолятов *X. campestris* pv. *malvacearum*. Из больных семядольных листьев хлопчатника было выделено шесть бактериальных штаммов, которые вызывали заболевание хлопчатника, однако в неодинаковой степени. Результаты показали, штаммы 1, 2 и 3 являются сильно вирулентными: удлиненные маслянистые пятна на листьях обнаруживались на 10-й день после инокуляции. Причем, сорта хлопчатника проявляли различную степень устойчивости к болезни. Так, на сортах Киргизский-3, С-6524, и Наманган-77 образовавшиеся маслянистые пятна, на 19-й день окружались коричневыми, некротическими тканями. Реакцию сверхчувствительности к этим изолятам не обнаружили на сорте Фергана-3, который был восприимчивым к поражению всеми изолятами. Полученные данные позволили установить, что более устойчивым является сорт хлопчатника С-6524.

Остальные три изолята показывали слабую вирулентность на сортах Киргизский-3 и Фергана-3 на 10-й день, а на 19-й день учета на сорте Киргизский-3 пятна некротизировались.

Результаты опытов с заражением стеблей показали аналогичную вирулентность испытуемых штаммов. Однако, стебли растений проявляли большую степень устойчивости к возбудителю, чем листья.

Таким образом, искусственное заражение различных сортов изолятами возбудителя, позволило установить, что изоляты 1,2 и 3 являются сильно вирулентными штаммами, и могут быть использованы для испытания новых селекционных сортов хлопчатника на устойчивость.

Для изучения устойчивости различных возрастов хлопчатник заражали ранее выделенным нами из пораженных гоммозом листьев хлопчатника вирулентным штаммом патогена. Результаты исследований показали, что интенсивность заболевания подавляется с возрастом растения. Сильное проявление заболевания наблюдали на всходах, развивающихся от зараженных семян, иногда наблюдали их гибель. Растения всех взятых в опыт сортов слабо заражались в возрасте 70 дней, что связано с приобретенной устойчивостью хлопчатника.

По результатам исследований были установлены 2 фазы развития заболевания: первая – фаза заболевания всходов, где заражение идет очень интенсивно (рис. 1.). Вторая – фаза заболевания взрослых растений, где отлично выражена степень устойчивости растений. Четкую разницу в заболеваемости между сортами обнаружили в возрасте 25-40 дней.

Таким образом, для испытания новых селекционных сортов на устойчивость можно рекомендовать хлопчатник в возрасте 25-40 дней.

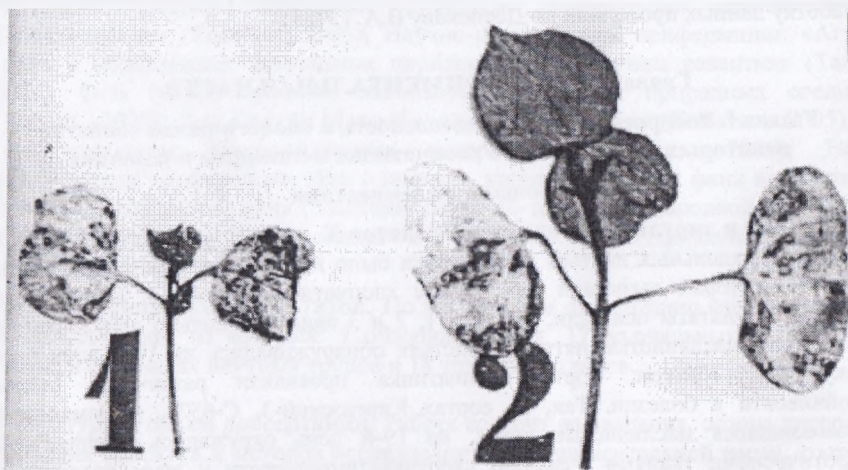


Рис. 1. Характер проявления заболевания на всходах от зараженных семян хлопчатника: 1) сильно заболевшие всходы, которые погибли в дальнейшем; 2) слабо заболевшие всходы, имеющие здоровые настоящие листья.

Культурально – морфологические и физиолого – биохимические свойства изолятов возбудителя гоммоза хлопчатника *X. campestris* pv. *malvacearum*. С целью идентификации выделенных патогенов мы проводили изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств изолятов (табл. 1 - 4).

Таблица 1.

Сбраживание источников углевода различными штаммами *X. malvacearum*

Штамм	Среда Омелянского											
	Глюкоза	Сахароза	Лактоза	Мальтоза	Левулеза	Ксилоза	Арабиноза	Маннит	Глицерин	Дульцит	Сорбит	Саллицин
1(в)	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
2(в)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-
3(в)	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
4(ср.в)	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
5(с.в)	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-
6(с.в)	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Контроль	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-

Примечание: в - вирулентный штамм, ср.в - средне вирулентный, с.в - слабо вирулентный (в последующих таблицах обозначения те же).

Таблица 2.

Редуцирующие и протеолитические свойства *X. malvacearum*

Штамм	Редуцирующие		Протеолитические	
	Восстановление нитратов	Редукция лакмусовой сыворотки	Выделение сероводорода	Разжижение желатины
1(в)	+	Щ	++++	+++
2(в)	-	-	++++	+++
3(в)	-	Щ	+++	+++
4(ср.в)	+	Щ	+++	++
5(с.в)	-	Щ	++	+
6(с.в)	-	-	++	++
Контроль	Нет данных	Нет данных	-	++

Примечание: Щ – изменение среды в сторону щелочеобразования;
+ - интенсивность протеолитических свойств

Таблица 3.

Рост на молоке и гидролиз крахмала *X. malvacearum*

Штамм	Молоко	Интенсивность гидролиза крахмала
1(в)	Пептонизирует и свертывает	+++
2(в)	Пептонизирует и свертывает	+++
3(в)	Пептонизирует	+++
4(ср.в)	Пептонизирует и свертывает	++
5(с.в)	Пептонизирует и свертывает	+
6(с.в)	Пептонизирует и свертывает	++
Контроль	Пептонизирует и свертывает	++

Таблица 4.

Культурально - биохимические свойства штаммов *X. malvacearum*

Штамм	Среда Омелянского										Мясо-пептонный Бульон	Лакмусовая сыворотка	Молоко	Желатина	Сероводород	
	Глюкоза	Сахароза	Лактоза	Мальтоза	манит	Дульцит	Сорбит	Манноза	Ксилоза	Глицерин						
3	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	Пристеночная пленка, муть, осадок	щ	Пептонизирует	++	+	
3/II	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	Небольшая пленка, муть	щ	Пептонизирует	++	++	
3/IV	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-		щ	Пептонизирует и свертывает	++	++	
2	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+		-	-	Пептонизирует и свертывает	++	++
2/I	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-		-	Пептонизирует	-	+	
2/III	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-		-	Пептонизирует и свертывает	-	+	

Примечание: щ – щелочеобразование, + - присутствие кислоты сероводорода, разжижение желатины, восстановление нитратов

В результате проведенных исследований установлено, что все штаммы, выделенные из пораженных гомозом семядольных листьев хлопчатника, являются представителями вида *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, так как по основным культуральным и физиологическим признакам они сходны с видом *X. campestris* pv. *malvacearum*, описанным в определителях Bergey и Н.А. Красильникова. Различия между отдельными исследуемыми штаммами *X. malvacearum*, относятся не к видоспецифическим, а к штаммоспецифическим признакам. Также установлено, что у штаммов *X. malvacearum* существует определенное соотношение степени вирулентности с протеолитической активностью и интенсивностью гидролиза крахмала: чем больше степень вирулентности штамма, тем выше протеолитическая и гидролитическая активности.

Патогенные и вирулентные свойства грибов рода *Fusarium*. В последние годы ареал поражаемости фузариозом различных сельскохозяйственных культур расширяется. Этим патогеном поражаются хлопчатник, овощные и бахчевые культуры, свекла, люцерна, болгарский перец и другие растения.

Из разных органов здорового и больного растения пшеницы, а также из ризосферы были выделены 11 видов грибов рода *Fusarium*. Определено, что в популяции преобладали следующие виды: *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. gibbosum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. solani* var. *argillaceum*, *F. moniliforme*, *F. sporotrichella*, *F. heterosporium*, *F. sambicinum*, *F. graminearum*.

При анализе данных (табл. 5.) действия культуральной жидкости грибов установлено, что самыми токсичными для семян пшеницы являются *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. culmorum*.

Процент проросших семян в этих вариантах снижался до 20%. Все испытанные штаммы грибов рода *Fusarium* снижали всхожесть семян и ингибировали рост корней. По сравнению с контролем, длина корней в опыте снижалась в 3-4 раза. Длина проростков изменялась незначительно.

Следовательно, на основании проведенных исследований можно отметить, что из 11 видов грибов рода *Fusarium*, только *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. culmorum* являются патогенными или токсичными, но наиболее вирулентным является *F. oxysporum*. В дальнейших наших исследованиях, для создания инфекционного фона и разработки мер борьбы использовался штамм *F. oxysporum*.

Вредоносность корневой гнили пшеницы и влияние предшественников на ее развитие. Исследования позволили установить, что корневая гниль вызывает укорочение длины стебля и снижение числа зерен в колосе. У пораженных растений корневой гнилью высота стебля заметно снижена по сравнению со здоровыми. Так в 1998 году она составляла 7,8 см, 35 см в 1999 году и 27,6 см в 2000 году.

Таблица 5.

Действие культуральной жидкости грибов рода *Fusarium* на всхожесть семян пшеницы

Виды грибов	Кол-во семян, шт.	% проросших семян	Длина корней, см	Длина проростков, см
Контроль	50	90	4,7	4,0
<i>F. oxysporum</i>	50	16,6	1,0	-
<i>F. culmorum</i>	50	32,0	1,6	1,5
<i>F. solani</i>	50	31,5	1,9	3,8
<i>F. moniliforme</i>	50	26,6	1,5	3,5
<i>F. avenaceum</i>	50	38,4	1,8	3,2
<i>F. gibbosum</i>	50	66	1,0	2,6
<i>F. sporotrichiella</i>	50	73	3,3	3,2
<i>F. heterosporium</i>	50	53,3	1,2	3,1
<i>F. sambucinum</i>	50	56,0	2,2	2,7
<i>F. graminearum</i>	50	58	2,5	2,9
<i>F. solani</i> var. <i>argillaceum</i>	50	57	2,6	3,1

Наибольшая разница между высотой здорового и больного растения была отмечена в 1999 году (табл. 6.). Аналогичные результаты отмечены в количестве колосков у растений и в количестве зерен в колосе. Самый низкий коэффициент вредоносности отмечен на Юне (6,2) и наибольший - на Санзар-8 (11,8).

Из всех обследуемых сортов наиболее восприимчивым к фузариозной корневой гнили оказался сорт Интенсивный, по сравнению с другими сортами. Менее восприимчивым оказался сорт Юна.

Анализируя данные, следует отметить, что наибольшего развития корневая гниль на пшенице проявилась на полях, где ранее произрастал хлопчатник. Это можно объяснить следующим образом: хлопчатник поражается корневой гнилью и, по-видимому, инфекция сохраняется, а при благоприятных условиях она проявляется и на пшенице.

Выше приведенные данные указывают на то, что введение чередования культур под пшеницу может ограничивать её поражаемость корневой гнилью. Чередование культур способствует повышению плодородия почвы, улучшает водный режим, активизирует почвенную микофлору и положительно влияет на развитие пшеницы, повышая ее устойчивость к возбудителю болезни.

Таким образом, большое влияние на ограничение развития корневой гнили пшеницы оказывают предшественники пшеницы. Если предшественником пшеницы был хлопчатник, то болезнь проявляется интенсивнее. Наиболее благоприятное воздействие на ограничение болезни оказывали такие предшественники как люцерна, кукуруза. Наиболее восприимчивым оказался сорт Интенсивный, а менее восприимчивым сорт Юна.

Влияние корневой гнили на рост и развитие пшеницы

Сорт	Годы	Состояние Растений	Высота растен- ный (см)	Длина колоса (см)	Количество, шт		Кэф. вредо нос- ности
					Колос- ков	Зерен в ко- лоске	
	1997-1998						
Интен- Сивный		Здоровые	75,4	6,5	14,0	30	7,5
		Пораженные	67,6	5,7	11,5	25	
Унумли		Здоровые	69,4	6,2	12,0	27,0	9,7
		Пораженные	60,2	5,5	11,0	22,0	
Енбош		Здоровые	70,3	6,4	10,5	21,0	7,2
		Пораженные	61,6	5,6	9,0	18,0	
Юна		Здоровые	68,8	6,2	13,0	28,0	6,2
		Пораженные	63,2	5,6	11,0	22,0	
	1998-1999						
Санзар-8		Здоровые	80,0	7,2	15,0	33,0	11,8
		Пораженные	49,0	6,6	12,5	26,0	
Интен- Сивный		Здоровые	90,0	7,5	16,4	35,0	8,3
		Пораженные	55,0	6,9	14,0	28,0	
Унумли		Здоровые	75,5	6,6	14,0	30,0	10,1
		Пораженные	67,4	5,9	11,0	26,0	
Скифянка		Здоровые	81,2	7,4	15,0	31,5	6,9
		Пораженные	72,4	6,2	13,0	27,0	
Енбош		Здоровые	78,6	7,0	12,5	30,0	9,2
		Пораженные	70,4	6,4	10,0	27,5	
	1999-2000						
Интен- Сивный		Здоровые	87,0	7,4	16,0	32,0	9,3
		Пораженные	59,4	6,5	13,4	26,4	
Унумли		Здоровые	79,6	7,0	14,0	30,0	9,9
		Пораженные	72,1	6,3	12,0	26,0	
Енбош		Здоровые	79,5	7,3	15,0	34,0	9,3
		Пораженные	71,4	6,2	13,5	29,0	
Юна		Здоровые	75,4	6,8	13,0	28,0	7,4
		Пораженные	66,9	6,0	11,0	24,0	

Влияние количества осадков на развитие болезней. Согласно литературным данным, процент больных корневой гнилью растений изменяется в зависимости от предшественника, неблагоприятных метеорологических условий, низкого уровня агротехники (Рамазанова, 1975). Этим, по-видимому, можно объяснить неодинаковое распространение и развитие болезни в разных хозяйствах Ташкентской области по годам.

В природных условиях корневая гниль пшеницы чаще проявляется при недостатке или резком колебании влаги в почве, особенно в первой половине вегетации. Эти условия ограничивают нормальное развитие растений и нарушают взаимоотношения между растениями и патогеном.

Повышение температуры воздуха и почвы в начальный период вегетации пшеницы иссушает верхние горизонты почвы, нарушает нормальное водообеспечение растений и отрицательно сказывается на образовании вторичной корневой системы; растения ослабевают и становятся более восприимчивыми к болезням (Тупеневич, 1974, Коршунова и др., 1966).

По данным С.М.Тупеневича (1974), в условиях Северного Казахстана сильное развитие корневой гнили на пшенице наблюдалось в засушливые годы (1961; 1963; 1965), когда растения пшеницы испытывали недостаток влаги в почве. Перенесшие засуху ослабленные растения выпадали от корневой гнили.

Результаты показали, что самое высокое поражение растений болезнью отмечено в 1998-1999 годах. В 1998 году осень была сухая вплоть до середины января 2000 года и лишь в январе - начале февраля были незначительные осадки, а весной, начиная с марта месяца были обильные дожди. Этот неустойчивый водный режим в почве, по-видимому, ставит растения пшеницы в зависимость от осадков, выпадающих редко и неравномерно, а это снижает устойчивость растений к возбудителю болезни. Корневая гниль поражает пшеницу в течение всего вегетационного периода и, как показали наши наблюдения, развивается при повышении температуры и влажности воздуха.

В литературе имеются скудные данные по влиянию влажности почвы на корневую гниль пшеницы. В связи с этим, следующим этапом нашей работы было изучение влияния влажности почвы на поражаемость пшеницы корневой гнилью. Наиболее неблагоприятными условиями для растений пшеницы оказалась нормальная 60%- ная влажность почвы до середины фазы кушения и затем резкое снижение влажности до 20 – 25 % в период от фазы кушения до созревания.

При этом хорошо развившиеся в первый период растения после снижения влажности до 20-25% испытывали недостаток во влаге, что привело к раннему отмиранию листьев.

Режим влаги в почве оказал влияние на отношение веса корневой системы к весу надземных органов растений. Оптимальная влажность в начале вегетации способствовала лучшему развитию надземной массы растения.

При недостатке влаги в почве с фазы кушения и до конца вегетации относительно слабо развитая корневая система не могла обеспечить влагой мощную зеленую массу растений, это вызвало отмирание нижних листьев, повысило восприимчивость растений к корневой гнили (болезнью были поражены 91% растений). Эта закономерность согласуется с высказыванием Коршуновой и др. (1978). Наиболее устойчивыми к корневой гнили оказались растения, обеспеченные влагой в течение всего периода вегетации. Таким образом, режим влаги в почве значительно влияет на развитие корневой гнили пшеницы.

Распространение грибов в ризосфере здоровых и больных растений пшеницы. Изучение нами соотношения родов и видов грибов в ризосфере здоровых и больных растений пшеницы показало, что физиологическое состояние растения заметно влияет не только на численность, но и на видовой состав грибов. В ризосфере пораженных корневой гнилью растений пшеницы, по сравнению со здоровыми, наблюдается заметное увеличение количества одних и уменьшение видов других родов.

В ризосфере больных растений из семейства *Mucoraceae* часто выделяли виды *Rhizopus nigricans*, *Mucor racemosus*, а из ризосферы здоровых растений часто выделяли *Actinomucor elegans*, *Mucor circinelloides*, *M.sturminus*. В ризосфере пшеницы численность грибов рода *Fusarium* - возбудителей гнилей корней и увядания возрастает, за счет видов *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *F. moniliforme*, *F. solani* var. *argillaceum*. В ризосфере пшеницы пораженной корневой гнилью по количественному соотношению доминировали *Fusarium oxysporum*, *F. solani*. Заметно увеличивается количество темно пигментированных гифальных грибов в ризосфере больных растений пшеницы в частности видов *Alternaria alternata*, *Cladoporium herbarum*. Кроме перечисленных из ризосферы пораженных растений выделяли *Stachybotrus alternans*, *Curvularia intermedia*, *Helminthosporium sativum*.

В ризосфере пораженных корневой гнилью растений наблюдается уменьшение численности родов и видового разнообразия грибов. Такое изменение, вероятно, происходит за счет токсических веществ, выделяемых возбудителями болезней растений.

При сравнении микофлоры и частоты встречаемости грибов в ризосфере и корнях здоровых и больных корневой гнилью пшеницы нами отмечено, что в ризосфере больных растений выявляется значительно большее количество грибов, чем у здоровых растений.

Из корней и ризосферы здоровой пшеницы вместе с широко распространенными видами грибов из родов *Aspergillus*, *Penicillium* выделяли виды *Chaetomium globosum*, *Fisidium viride*, *Rhinocladiopsis versiculosa*, *Trichoderma lignorum*, *Fusarium culmorum*, *F. avenaceum*.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в ризосфере пораженных корневой гнилью растений пшеницы встречаются и в количественном отношении доминируют следующие виды грибов: *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. insultus*, *A. wentii*, *A. ohraceus*, *Cephalosporium acremonium*, *C. glutineum*, *Cladoporium herbarum*, *Dendrodochium toxicum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. solani* var. *argillaceum*, *Gliocladium roseum*, *G. zaleskii*, *Helminthosporium*

sativum, *Penicillium purpuragenum*, *P. soppi*, *Scopulariopsis brevicaula* v. *glabra*, *Stachybotrus alternans*, *Trichotecium roseum*, *Curvularia intermedia*, *Verticillium dahliae*, *V. lateritium*. Среди них имеются представители с различно выраженной степенью паразитизма – от сапротрофов до факультативных паразитов.

Изменение видового и количественного состава грибов в зависимости от глубины почвенного горизонта. Нами установлено, что в верхних слоях ризосферы пшеницы встречается максимальное количество и видовое разнообразие грибов. Так, в обследуемых нами хозяйствах наибольшее количество грибов в горизонте 0 – 10 см отмечено (9239 шт. на 1 г. почвы) в хозяйстве «Узбекистон» Чиназского района, а наименьшее (4032 шт. на 1 г. почвы) в хозяйстве «Турон» Кибрайского района. С глубиной количество грибов постепенно уменьшается и их видовой состав становится менее разнообразным.

Во всех горизонтах в ризосфере пшеницы встречаются грибы *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. ustus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. insultus*, *A. ochraceus*, *A. petrakii*, *A. wentii*, *Cladosporium herbarum*, *Cephalosporium acremonium*, *A.alternata*, *Mucor racemosus*, *Rizopus nigricans*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. solani* var. *argillaceum*, *F. monilioforme*, *F.heterosporium*, *Gliocladium roseum*, *Helmintosporium sativum*, *Penicillium lividium*, *P.notatum*, *P. paraherguei*, *P. purpuragenum*, *P. rubrum*, *P. soppii*, *Scopulariopsis brevicaula*, *Stachobotrys alternans*, *Trichoderma lignorum*, *T.koningii*.

Изучение видового состава грибов показало, что в ризосфере пшеницы на глубине до 20 см встречаются грибы из класса *Zygomycetes* – *Actinomucor elegans*, *Mucor sturminus*, *M.chistioniensis*. В более глубоких горизонтах эти виды отсутствуют. В этом же горизонте чаще, чем в других и в наибольшем количестве были отмечены многие виды родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* и др.

В верхних горизонтах встречаются следующие виды грибов – *Actinomucor elegans*, *Fusarium avenaceum*, *F.sporotriciella*, *Mucor sturminus*, *M.circimiensus*, *Penicillium camemberti*.

В более глубоких слоях почвы обнаружены следующие виды: *Chaetomium globosum*, *Fusarium culmorum*, *F. gibbosum*, *F. sambucinum*, *Penicillium cremeo-griseum*, *Penicillium chrzasczii*, *P. fellutaneum*, *P. steckii*, *P. vinactum*, *Rhinocladiopsis versiculosa*.

Наибольшая встречаемость грибов в верхних горизонтах ризосферы пшеницы связана с лучшей аэрацией и наличием растительных остатков, так как почвенные грибы, в основном, аэробы и могут нормально развиваться лишь при достаточном количестве воздуха и питательных веществ. Как известно, сапротрофные грибы бурно развиваются в первые фазы распада органических веществ, иными словами они участвуют в основном в разложении свежих растительных остатков (Частухин, 1952, 1969) наибольшая масса которых в ризосфере пшеницы приурочена к верхним горизонтам.

Раздел II. Взаимоотношения почвенных бактерий - антагонистов с фитопатогенными микроорганизмами

Скрининг активных штаммов бактерий – антагонистов фитопатогенных микроорганизмов. Анализ изучения антагонистической активности антагонистов показал, что антагонизм у микроорганизмов по отношению к возбудителям болезней хлопчатника в одних случаях проявляется активно, а в других - пассивно (табл.7.).

Таблица 7.

Влияние бактерий – антагонистов на фитопатогенные микроорганизмы

Бактерии – антагонисты	Диаметры зон угнетения фитопатогенов, мм			
	<i>X.malvacearum</i>	<i>V.dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> var. <i>vasinfectum</i>	<i>R.solani</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	41 26.25 ± 2.8	20.25 ± 1.4	23.25 ± 2.8	22.0 ± 4.1
<i>Bacillus subtilis</i> 23	35.0 ± 2.4	32.5 ± 1.4	27,2 ± 1,4	31.25 ± 2.9
<i>Bacillus subtilis</i> N	34.8 ± 2.1	18.7 ± 4.26	28.4 ± 2.7	28.5 ± 7.3
<i>Bacillus megaterium</i> 26	23.0 ± 2.4	24.25 ± 2.8	15.25 ± 2.7	18.75 ± 2.8

Наибольший спектр зон угнетения роста фитопатогенных микроорганизмов наблюдался при использовании *B. subtilis* 23, а самая большая зона угнетения проявилась в варианте с возбудителем гоммоза хлопчатника *X. malvacearum*, и составила 35,0 мм.

Культура *B. megaterium* 26, спектр зон ингибирования фитопатогенных микроорганизмов которой колебался в пределах от 15,25 мм до 24,25 мм, проявила высокую антимикробную активность по отношению к *V. dahliae*, однако культура обладала наименьшей активностью во всех других вариантах.

Таким образом, проведенные исследования по изучению антагонистических свойств исследуемых бактерий - антагонистов показали, что наиболее активными антагонистами по отношению к фитопатогенам являются штаммы *Bacillus subtilis*.

Сравнительное изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств *B. subtilis*. Нам было необходимо установить, имеются ли существенные культурально - морфологические и физиолого - биохимические различия между относящимися к одному виду *B. subtilis* штаммами 23 и N, которые могут влиять на антимикробную активность. С целью выяснения этого вопроса, мы проводили сравнительное изучение культурально - морфологических и физиолого-биохимических свойств штаммов 23 и N.

Изучение культурально - морфологических и физиолого-биохимических свойств ризосферного штамма *B. subtilis* 23 не показало существенных различий по перечисленным выше характеристикам штамма N. Проявились лишь незначительные различия в интенсивности гидролиза крахмала и желатины, пептонизации молока, каталазной и уреазной активностях. Данные процессы протекали более интенсивно у штамма *B. subtilis* N, по сравнению со штаммом 23.

По видимому, эти различия связаны со штаммоспецифическими признаками.

Сравнительное изучение скорости роста культур *B. subtilis* на жидкой питательной среде показало, что *B. subtilis* N достигал стационарной фазы развития за 25 часов, в то время как почвенный штамм *B. subtilis* 23 достигал той же точки только за 40 ч (рис. 2.), что говорит о различиях в скорости клеточного деления культур, связанной с эволюционной приспособленностью культур к условиям обитания в различных экологических нишах.

Разница между двумя культурами наблюдалась и при измерении в динамике значений рН культуральной жидкости исследуемых штаммов (рис.3.). Так, в варианте опыта с эндофитным штаммом, кривая изменения показателя рН среды имела большой разброс значений рН в динамике, что указывает на более активное потребление питательных элементов среды. По достижении стационарной фазы развития, когда в культуральных жидкостях начинали преобладать протеолитические процессы, культуральная жидкость эндофита имела более высокое значение рН, свидетельствуя о преобладающем наличии продуктов автолитического распада клеток.

Результаты сравнительных исследований по образованию антибиотических веществ обоих штаммов *B. subtilis* также подтверждают предыдущие результаты экспериментов, предположивших различия в скорости протекания физиолого-биохимических процессов у испытуемых культур. Данные, представленные на рисунке 4 указывают на то, что штамм N начинал проявлять антибиотическую активность на 5 часов раньше, чем почвенная культура.

Таким образом, сравнительное изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств штаммов *B. subtilis* выявило различие в скорости клеточного деления, которая у более активного антагониста штамма 23 была ниже, чем у штамма N.

Природа антибиотических веществ, продуцируемых *B. subtilis*. Выделенные нами биологически активные вещества штаммов 23 и N обладали растворимостью в этаноле, изопропанолe, и не растворялись в этил ацетате, ацетоне и воде, а полученный спиртовой экстракт, хранившийся при температуре +4⁰С, не терял антибиотической активности в течение 1 года.

В экспериментах по выделению антибиотических веществ с целью выяснения их химической природы, нами было получено около 850 мг биологически активных веществ на литр 3-х суточных культуральных жидкостей штаммов 23 и N, которые имели растворимость подобную циклическому полипептиду, выделенному из *B. subtilis* (Pusey *et. al.*, 1984).

Когда 80%-ные этанольные экстракты культуральной жидкости обеих культур, обладавшие антимикробной активностью, фракционировались нами методом Тонкослойной хроматографии на три фракции, оказалось, что две из них

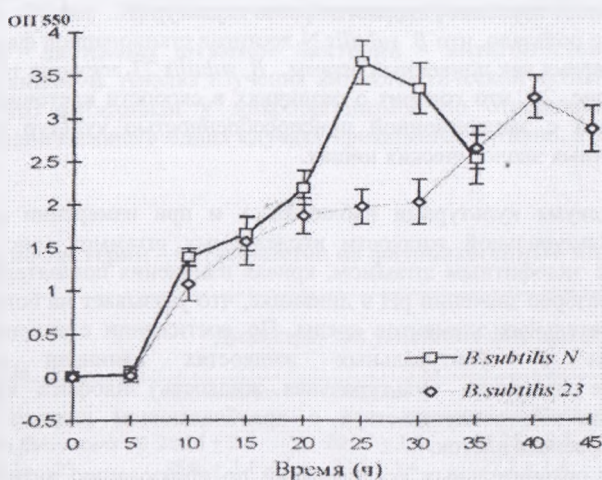


Рис. 2. Кривые роста популяции клеток эндофитного и почвенного штаммов *B. subtilis*.

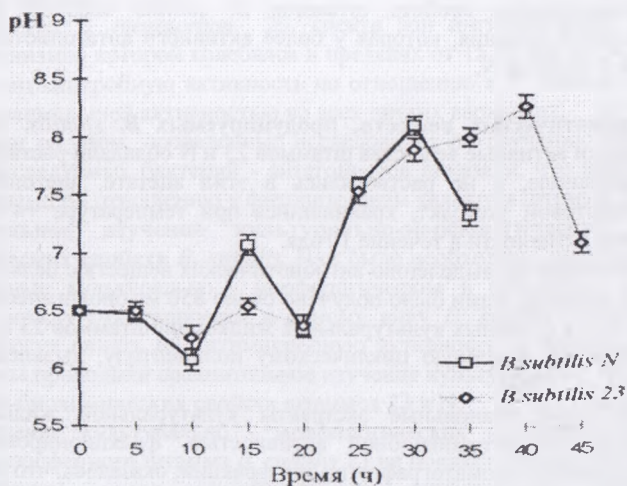


Рис. 3. Значения рН культуральной жидкости эндофитного и почвенного штаммов *B. subtilis*.

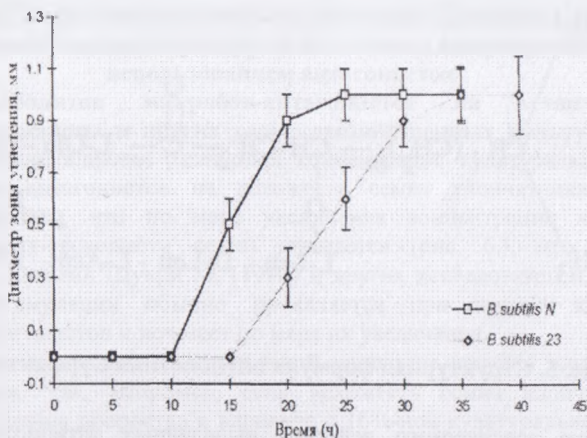


Рис. 4. Антибиотическая активность этанольных экстрактов из культуральных жидкостей эндофитного и почвенного штаммов *B. subtilis* против фитопатогена *R. solani*.

(R_f - 0.19 и 0.3) были элементами питательной среды. Третья фракция (R_f - 0.72) содержала биологически активные вещества и ингибировала рост тест-культуры.

Результаты ТСХ показали, что обе культуры являются продуцентами идентичных антибиотических веществ, так как фракция, содержащая биологически активное вещество у обоих штаммов имело одно и то же значение R_f . Данные ТСХ также указывали на то, что штамм 23 начинал синтезировать антибиотик позже (через 20 ч после инокуляции среды, в то время, как штамм N - через 15 часов).

Полученный масс-спектр выделенных и разделенных методом ТСХ биологически активных веществ, продуцируемых штаммом 23 обнаружил несколько близких по массе пиков, а один из них соответствовал по молекулярной массе ранее изученному антибиотику сурфактин, выделенному из *B. subtilis* ATCC1332 (Nakano, Zuber, 1990; Wei, Chu, 2002; Sen, Swaminathan, 2005), и являющегося липепептидным циклическим антибиотиком с молекулярной массой 1036.06. Таким образом, полученные результаты проведенных исследований позволяют утверждать, что изучаемая нами культура *B. subtilis* 23 является продуцентом сурфактина (рис. 5.).

Характер биологического действия антибиотических веществ, продуцируемых штаммами *B. subtilis* на клетки фитопатогенов. При микроскопировании клеток фитопатогенного гриба *R. solani*, взятых в зоне ингибирования изучаемыми бактериальными штаммами 23 и N нами было обнаружено, что продуцируемые антибиотические вещества оказывают разрушающее действие на клетки фитопатогена, вызывая дезорганизацию и разрушение клеточных стенок *R. solani*.

resurs markazi

17

Inv No a-14159

Раздел III. Биологическая защита хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур от патогенных микроорганизмов с использованием антагонистов

Влияние метаболитов микробов-антагонистов на всхожесть семян хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур, их рост и развитие. Изучение влияния различных концентраций культуральной жидкости взятых в опыт антагонистов на всхожесть семян хлопчатника и развитие проростков показало, что по мере увеличения концентрации культуральной жидкости процент всхожести семян снижается (рис. 6.), что находится в соответствии с данными Шукри М. (1990) и других исследователей, отмечавших, что эффект стимуляции обычно проявляется при низких концентрациях метаболитов антагонистов и исчезает по мере их увеличения.

Высокая концентрация культуральной жидкости пагубно влияла также на длину проростка. Так, например, если всхожесть семян хлопчатника сорта Киргизский-3 и длина проростка в варианте с 10%-ной культуральной жидкостью антагониста *B. subtilis* 23 составили 98.3% и 8.2 см соответственно, то в варианте со 100%-ной культуральной жидкостью того же антагониста всхожесть семян хлопчатника и длина проростка составили 33.3% и 2.4 см соответственно.

Культуральная жидкость испытанных нами микробов-антагонистов в 10%-ной концентрации оказывала стимулирующее действие на всхожесть семян, длину и массу проростков хлопчатника, за исключением *B. megaterium* в варианте с семенами хлопчатника сорта С-6524, а с увеличением концентрации культуральной жидкости наблюдалось ее ингибирующее действие.

Увеличение массы проростков хлопчатника также стимулировалось 10%-ной культуральной жидкостью антагонистов, а с ее увеличением наблюдался обратный, ингибирующий эффект.

Установлено, что всхожесть семян, длина и масса проростка в контроле у сорта С-6524 составили 68%, 4.7 см и 516 мг соответственно, а у сорта Киргизский-3 эти параметры составили 82.0%, 65 см и 655 мг соответственно.

Результаты наших исследований показали, что культуральные жидкости антагонистов в 10%-ной концентрации оказывали стимулирующий эффект на всхожесть семян хлопчатника сортов С-6524 и Киргизский-3. Причем, наибольшим стимулирующим эффектом обладала 10%-ная культуральная жидкость *B. subtilis* 23.

Результаты аналогичных исследований на сортах озимой пшеницы сортов Интенсивный и Ёнбош также показали, что культуральные жидкости антагонистов в 10%-ной концентрации оказывали стимулирующий эффект на всхожесть, наибольшим стимулирующим действием обладала 10% культуральная жидкость антагонистов *B. subtilis* 23 и *P. fluorescens* 41. В дальнейшем, мы использовали культуральные жидкости антагонистов в 10%-ной концентрации.

Питательная среда оказывала небольшое стимулирующее действие на всхожесть семян хлопчатника и длину проростка: если в контроле с использованием стерильной воды эти данные составили 80.0% и 4.6 см соответственно, то в варианте с 10%-ной питательной средой они составили 81.0% и 5.1 см соответственно.



Рис. 6. Влияние различных концентраций культуральной жидкости *B. subtilis* 23 на всхожесть семян хлопчатника и длину проростка (сорт Киргизский-3).

Однако, в вариантах с использованием культуральных жидкостей антагонистов данные параметры были выше, что указывает на наличие положительного эффекта метаболитов антагонистов.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что продукты жизнедеятельности испытываемых штаммов обладают избирательным действием на всхожесть семян, рост и массу проростков различных растений. Эффективность стимулирующего действия микроорганизмов зависит также от разведения культуральной жидкости. Наибольший эффект проявлялся при использовании 10%-ной культуральной жидкости. Наибольшее стимулирующее действие на всхожесть семян растений и развитие проростков оказывал штамм *B. subtilis* 23.

Влияние клеточной суспензии антагонистов на всхожесть семян хлопчатника, развитие всходов и их поражаемость фитопатогенами. Как мы отмечали ранее, при изучении влияния культуральной жидкости микробов-антагонистов на всхожесть и продуктивность сельскохозяйственных растений, результаты не являются вполне достоверными в связи с возможным стимулирующим действием элементов питательной среды, на которой культивировался антагонист. Для выяснения данного вопроса, изучалось влияние клеточной суспензии антагонистов на всхожесть семян хлопчатника, их рост и поражаемость всходов корневой гнилью и гоммозом.

Результаты наших исследований показали биоконтролирующее действие клеточной суспензии антагонистов. Так, поражаемость всходов хлопчатника корневой гнилью снижалась с 80,0% до 40,0%, гоммозом - с 35,4% до 10,0%. Клеточные суспензии антагонистов также стимулировали всхожесть семян и

высоту проростков. Таким образом, изучаемая нами культура *B. subtilis* 23 обладала высокой стимулирующей и биоконтролирующей активностями.

Действие 10%-ной культуральной жидкости антагонистов на урожайность хлопчатника, пшеницы и их поражаемость фитопатогенами. Результаты мелко-деляночного опыта подтвердили стимулирующее действие исследуемых бактерий-антагонистов на всхожесть семян, что совпадает проведенными нами ранее лабораторными исследованиями.

Наибольший процент всхожести семян наблюдался при использовании 10%-ной культуральной жидкости *B. subtilis* 23. Так, например, в 2000 году данный показатель составил сорта Киргизский-3 – 94.1%, а у сорта С-6524 – 90.9% против 78.6% и 75.6% соответственно в контроле.

Анализ 3-х летних полученных данных по пораженности растений хлопчатника семядольной и листовой формами гоммоза, указывает на то, что эффект от использования антагонистов для предпосевной обработки инфицированных семян особенно ярко проявляется в фазе семядолей: если в варианте опыта с инфицированными и обработанными в культуральной жидкости *B. subtilis* 23 семенами, пораженность семядольной формой составила 35.2% и 31.7% у сортов С-6524 и Киргизский-3 соответственно, то пораженность листовой формой в этом же варианте была 77.8% и 75.1% соответственно.

В 2000 году в контроле, где семена не подвергались обработке урожай составил 34.2 ц/га и 34.5 ц/га на сортах С-6524 и Киргизский-3 соответственно, тогда как в опыте с предпосевной обработкой семян 10%-ной культуральной жидкостью *B. subtilis* 23, урожайность составила 39.8 и 40.2 ц/га соответственно. Урожайность обоих сортов хлопчатника в вариантах опыта с зараженными и обработанными 10%-ной культуральной жидкости антагонистов была также выше, чем в контроле с инфицированными семенами. Так, в 2000 году в варианте опыта с предварительно инфицированными *X. malvacearum* и обработанными в культуральной жидкости *B. subtilis* 23 семенами, урожайность составила 30.2 ц/га и 30.6 ц/га у сортов С-6524 и Киргизский-3 соответственно, а в варианте опыта без обработки культуральной жидкостью антагониста, этот показатель был 22.0 ц/га и 22.6 ц/га соответственно.

Протравливание семян позволяет снизить потери урожая, улучшить качество посевного материала и фитосанитарную обстановку на посевах сельскохозяйственных культур.

Таким образом, результаты мелко-деляночных опытов показали положительный эффект от применения 10%-ной культуральной жидкости *B. subtilis* 23 на всхожесть семян хлопчатника и озимой пшеницы, их урожайность, а также на снижение поражаемости растений фитопатогенными возбудителями.

Биологическая эффективность предпосевной обработки семян 10%-ной культуральной жидкостью антагонистов. Подсчет биологической эффективности использования 10%-ной культуральной жидкости взяты в опыт антагонистов показал, что при предпосевной обработке семян хлопчатника сортов С-6523 и Киргизский-3 штаммами 41, 23 и 26, биологическая эффективность составила 53.7%, 61.0%, 73.6% и 65.4%, 66.5%, 43.2% соответственно, а самая

высокая биологическая эффективность проявилась при использовании штамма *B.subtilis* 23. Таким образом, использование бактериального штамма *B.subtilis* 23 значительно способствует качественному и количественному увеличению урожайности хлопчатника и озимой пшеницы путем снижения поражаемости фитопатогенами, и стимулирующего влияния на развитие растений.

Биологическая эффективность предпосевной обработки семян клеточной суспензией антагониста *B.subtilis* 23. Для испытания антагониста в форме клеточной суспензии, используемой в мировой практике как промышленная препаративная форма биопрепарата, мы закладывали полевые опыты по изучению влияния клеточной суспензии антагониста на урожайность хлопчатника и озимой пшеницы, и их поражаемость фитопатогенами. Полевые опыты проводили в фермерских хозяйствах «BO'Z-SUV BIOZERNO» и «SOF TABIAT AGRO» Зангиатинского района Ташкентской области.

Таблица 8.

Биологическая эффективность предпосевной обработки семян клеточной суспензией *B. subtilis* 23 (испытания 2006-2007 гг.)

Варианты опыта	Поражен- ность, %	Биологическая эффективность, %	Урожайность, ц/га
Хлопчатник сорт «С-6524», ФХ «BO'Z-SUV BIOZERNO»			
Контроль (<i>X. malvacearum</i>)	92,5	--	2,2
<i>X. malvacearum</i> + <i>B. subtilis</i> 23	37,5	59,4	26,2
<i>X. malvacearum</i> + Хлопкоспорин	42,6	53,9	22,4
Озимая пшеница сорт «Крошка», ФХ «BO'Z-SUV BIOZERNO»			
Контроль (<i>R. solani</i>)	97,6	--	1,4
<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 23	35,2	63,9	27,4
<i>R. solani</i> + Хлопкоспорин	41,6	57,4	23,4
Озимая пшеница, сорт «Половчанка», ФХ «SOF TABIAT AGRO»			
Контроль (<i>F. oxysporum</i>)	94,8	--	6,1
<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 23	37,5	60,4	33,4
<i>F. oxysporum</i> + Хлопкоспорин	50,3	46,9	30,2
Контроль (<i>F. oxysporum</i>)	93,4	--	6,9
<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 23	33,2	64,4	34,2
<i>F. oxysporum</i> + Хлопкоспорин	34,2	63,4	32,8
НСР (0.05)	11.2	18.4	0.7

Полученные результаты доказали биоконтролирующее действие клеточной суспензии антагонистов. Так, в испытаниях 2006-2007 гг (табл. 8.) поражаемость всходов хлопчатника корневой гнилью снижалась с 97,6% до 35,2%, гоммозом - с 92,5% до 37,5%. В результате использования клеточной суспензии антагониста,

урожайность хлопчатника повысилась с 2,2 ц/га в контроле до 26,2 и 27,4 ц/га в вариантах с *B.subtilis* 23 против гомоза и корневой гнили соответственно. Аналогичные положительные результаты по снижению поражаемости были получены в опытах на озимой пшенице: самая высокая биологическая эффективность была установлена в варианте с *B.subtilis* 23 и составила 60,4% на сорте «Крошка» в фермерском хозяйстве «BO'Z-SUV BIOZERNO» и 64,4% на сорте «Половчанка» в фермерском хозяйстве «SOF TABIAT AGRO». Урожайность пшеницы в контроле составляла в выше указанных фермерских хозяйствах 6,1 и 6,9 ц/га соответственно, тогда как в варианте с использованием *B. subtilis* 23 – 33,4 ц/га и 34,2 ц/га соответственно.

Испытания 2007-2008 гг. подтвердили биоконтролирующее действие клеточной суспензии антагонистов и показали аналогичные результаты по биологической эффективности применения антагонистов (табл. 9.).

Таким образом, результаты 2-летних полевых испытаний позволяют нам рекомендовать использование клеточной суспензии антагониста *B. subtilis* 23 способом предпосевной обработки семян для снижения поражаемости хлопчатника и озимой пшеницы вредоносными болезнями.

Таблица 9.

Биологическая эффективность предпосевной обработки семян клеточной суспензией *B. subtilis* 23 (испытания 2007-2008 гг.)

Варианты опыта	Поражен- ность, %	Биологическая эффективность, %	Урожайность, ц/га
Хлопчатник			
сорт «С-6524», ФХ «SOF TABIAT AGRO»			
Контроль (<i>X. malvacearum</i>)	96,6	--	1,4
<i>X. malvacearum</i> + <i>B. subtilis</i> 23	37,6	61,07	26,4
<i>X. malvacearum</i> + Хлопкоспорин	44,2	54,24	22,2
Озимая пшеница			
Сорт «Крошка», ФХ «SOF TABIAT AGRO»			
Контроль (<i>F. oxysporum</i>)	90,5	--	7,2
<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 23	38,1	57,90	33,7
<i>F. oxysporum</i> + Хлопкоспорин	46,1	49,06	31,2
НСР (0,05)	12.4	19.22	0.6

Раздел IV. Влияние бактерий-антагонистов на представителей полезной почвенной микрофлоры

В настоящее время, в литературе имеются сведения о том, что в почвах, где развиваются антагонисты, представители полезной почвенной микрофлоры развиваются слабее или вовсе не развиваются. В связи с этим, перед нами стояла

задача: определить влияние метаболитов исследуемых бактерий - антагонистов на представителей азотфиксирующих свободноживущих и клубеньковых бактерий родов *Azotobacter* и *Rhizobium*, которые играют большую роль в процессах обогащения почвы необходимыми элементами для развития растений.

Результаты исследований показали, все исследуемые антагонисты лишь в некоторых вариантах имели слабую антибиотическую активность по отношению к азотфиксаторам (табл. 10.). Таким образом, установлена экологическая безвредность использования культуры *B. subtilis* 23 при разработке биопрепарата для предпосевной обработке семян в борьбе с фитопатогенами.

Таблица 10.

Влияние бактерий - антагонистов на азотфиксирующие бактерии

Азотфиксирующие бактерии	Диаметры зон угнетения, мм			
	<i>P. fluorescens</i> 41	<i>B. subtilis</i> 23	<i>B. subtilis</i> N	<i>B. megaterium</i> 26
Клубеньковые бактерии:				
<i>Rhizobium japonicum</i> 966	-	-	-	8 ± 1.3
<i>R. japonicum</i> 1141	-	-	-	-
<i>R. trifolii</i> 329	-	9 ± 4.2	8 ± 2.1	-
<i>R. meliloti</i> Д	11 ± 3.1	-	-	12 ± 4.2
Свободноживущие азотфиксирующие бактерии:				
<i>Azotobacter chroococcum</i> 19	8 ± 2.5	-	-	-
<i>A. chroococcum</i> 17	-	-	-	-
<i>A. chroococcum</i> 514	-	-	-	-
<i>A. agila</i> 7	-	-	-	-

Раздел V. Практическое предложение по технологии производства и применению биопрепарата с использованием изученного антагониста *Bacillus subtilis* 23

Результаты проведенных исследований позволяют предлагать изученный штамм *B. subtilis* 23 для использования в производстве комплексного, эффективного и экологически безвредного биопрепарата против фитопатогенов хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур.

Основываясь на результатах исследований, мы предлагаем биотехнологию производства биопрепарата на основе изученного нами штамма *B. subtilis* 23, внедрение которой при несложном аппаратурном оформлении позволило бы в значительной мере решить выше указанные проблемы сельского хозяйства.

Предлагаемая технологическая схема производства биопрепарата

Вспомогательные работы (посуда, производственная среда) -» Подготовка микробного штамма -» Посев производственной среды -» Получение биомассы -» Приготовление препарата -» Лиофилизация препарата -» Упаковка готового продукта

Микробиологическое описание биотехнологии производства биопрепарата

1. Бактериальный штамм культивируется на жидкой питательной среде.
2. В полученную культуральную жидкость вносится сахарозно-желатиновый наполнитель: 6% сахарозы и 1% желатина (в процентах от общей массы бактериальной суспензии).
3. Полученную смесь помещают в фасовочные ампулы и замораживают при температуре -20°C на 48 часов.
4. Проводят лиофилизацию в течение 36 часов при температуре от -20°C до $+36+40^{\circ}\text{C}$: ампулы помещают в сушильную камеру при вакууме не менее 20-25 Pa и в таком режиме выдерживают 2 часа, затем включают подогрев и, постепенно повышая температуру в течение 8-10 часов, доводят до 0°C .
5. Увеличивают температуру на $2^{\circ}\text{C}/\text{час}$ с тем, чтобы через 16-18 часов после включения подогрева температура достигла $+36 +40^{\circ}\text{C}$. При этом, остаточное давление в камере снижают до 15-20 Pa.
6. Давление уравнивают, а ампулы запаивают. Влажность препарата 5-7%.

Рекомендации по применению биопрепарата

Рекомендуем применять биопрепарат способом предпосевной или заблаговременной (за 1-1,5 месяца) обработки семян его суспензией со следующей нормой расхода:

- 1) Предпосевная обработка: 3.0 - 4.0 кг на 1 т семян (25-30 л воды на 1 т семян);
- 2) Заблаговременная обработка: 0.5 - 1.0 кг на 1 т семян (15-20 л воды на 1 т семян).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным звеном в технологии возделывания хлопчатника, пшеницы и других сельскохозяйственных культур является защита их от бактериальных и грибных заболеваний, значительно снижающих урожайность, и наносящих большой ущерб экономике сельского хозяйства. Поэтому вопросы разработки эффективных средств борьбы с фитопатогенными микроорганизмами постоянно находятся в центре внимания науки и производства. Массовое применение пестицидов нарушило экологическое равновесие в природе, привело к увеличению химических веществ в пищевых продуктах и в самой окружающей среде, а также является причиной появления новых, устойчивых к пестицидам, более агрессивных форм фитопатогенов. В этой связи, в настоящее время внимание ученых направлено на поиск эффективных биологических методов борьбы с фитопатогенами.

Основным препятствием к созданию экологически чистых биопрепаратов является недостаток знаний о биологии как возбудителей болезней, так и микробов – антагонистов, а также природы их взаимоотношений. Несмотря на значительные успехи в описании отдельных механизмов антагонистической активности микроорганизмов, глубокие биологические основы данного процесса требуют более детального изучения. Поэтому, проведение исследований в данном

направлении является актуальной научной задачей для решения практических проблем защиты растений от фитопатогенов.

Выделенные из пораженных гоммозом семядольных листьев хлопчатника бактериальные штаммы, по основным культуральным и физиологическим признакам сходны с видом *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, описанным в определителях Bergey и Н.А. Красильникова. Изоляты имеют различия по некоторым биологическим и вирулентным свойствам: у сильно вирулентных штаммов 1, 2 и 3 протеолитическая активность и интенсивность гидролиза крахмала выше, чем у 4-го средне вирулентного и 5-го и 6-го слабо вирулентных изолятов. Результаты опытов по искусственному заражению различных сортов изолятами возбудителя гоммоза позволяют заключить, что штаммы 1,2 и 3 могут быть использованы для испытания новых селекционных сортов хлопчатника на гоммозоустойчивость. Для испытания новых селекционных сортов на гоммозоустойчивость можно рекомендовать хлопчатник в возрасте 25-40 дней.

В работе установлено, что из 11 выделенных видов грибов рода *Fusarium*, только *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, *F. culmorum* являются сильно патогенными или токсичными. Наиболее патогенным является гриб *F. oxysporum*.

Большое влияние на ограничение развития корневой гнили пшеницы оказывают предшественники. Наибольшая пораженность болезнью отмечалась на полях, где предшествующими культурами были пшеница и хлопчатник, и составляла 24,1% и 21,3% соответственно. Это можно объяснить следующим образом: хлопчатник поражается корневой гнилью и, по видимому, инфекция сохраняется в почве, а при благоприятных условиях она проявляется на пшенице. Установлено, что наиболее благоприятное воздействие на ограничение болезни оказывают такие предшественники как люцерна, кукуруза.

Корневая гниль пшеницы чаще проявляется при недостатке или резком колебании влаги в почве, особенно в первой половине вегетации. Эти условия ограничивают нормальное развитие растений и нарушают взаимоотношения между растениями и патогеном. Анализ данных показал, что при недостатке влаги в почве с фазы кушения и до конца вегетации относительно слабо развита корневая система не может обеспечить влагой мощную зеленую массу растений, это вызывает отмирание нижних листьев, и повышает восприимчивость растений к корневой гнили (болезнью были поражены 91% растений). Наиболее устойчивыми к корневой гнили оказались растения, обеспеченные влагой в течение всего периода вегетации.

Физиологическое состояние растения заметно влияет не только на численность, но и на видовой состав грибов. В ризосфере пораженных корневой гнилью растений наблюдается уменьшение численности родов и видового разнообразия грибов. Такое изменение, вероятно, происходит за счет токсических веществ, выделяемых возбудителями болезней растений. При сравнении микофлоры и частоты встречаемости грибов в ризосфере и корнях здоровых и больных корневой гнилью пшеницы нами отмечено, что в ризосфере больных растений выявляется значительно большее количество грибов, чем у здоровых растений. Из корней и ризосферы здоровой пшеницы вместе с широко

распространенными видами грибов из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, выделяются виды *Chaetomium globosum*, *Fisidium viride*, *Rhinocladiopsis versiculosa*, *Trichoderma lignorum*, *Fusarium culmorum*, *F. avenaceum*.

Установлено так же, что на разных глубинах почвенного горизонта наблюдаются количественные изменения грибов. Наибольшее число их в поверхностном слое почвы, с глубиной оно уменьшается, а также сокращается и число видов. Наибольшая встречаемость грибов в верхних горизонтах ризосферы пшеницы связана с лучшей аэрацией и наличием растительных остатков, так как почвенные грибы в основном аэробы и поэтому могут нормально развиваться лишь при достаточном количестве воздуха и питательных веществ.

Изучение антимикробного действия исследуемых микроорганизмов против возбудителей болезней хлопчатника показало, что наиболее активными антагонистами по отношению к возбудителям болезней хлопчатника и пшеницы являются штаммы *Bacillus subtilis*.

Установлено, что антагонист *B. subtilis* 23 является продуцентом антибиотика сурфактин. Единица антибиотической активности биологически активных экстрактов штаммов 23 и N эквивалентна 85 мкг выделенных антибиотических веществ, а 1 мл экстракта содержит 11,8 единиц антибиотической активности.

Продукты жизнедеятельности испытуемых штаммов обладают стимулирующим действием на всхожесть семян, рост и массу проростков различных растений. Эффективность стимулирующего действия зависит также от разведения культуральной жидкости. Наибольший эффект проявляется при использовании 10%-ной культуральной жидкости *B. subtilis* 23: всхожесть семян хлопчатника сортов Киргизский-3 и С-6524 составляет 94,1% и 90,9%, против 78,6% и 75,6% в контроле соответственно.

Для испытания антагониста в форме клеточной суспензии, используемой в мировой практике как промышленная препаративная форма биопрепарата, мы закладывали лабораторные и полевые опыты по изучению влияния клеточной суспензии антагониста на урожайность хлопчатника и пшеницы, и их поражаемость фитопатогенами. Полученные результаты доказывают биоконтролирующее действие клеточной суспензии антагонистов. Так, поражаемость всходов хлопчатника корневой гнилью в фермерском хозяйстве «BO'Z-SUV BIOZERNO» снижалась с 97,6% до 35,2%, гоммозом - с 92,5% до 37,5%, а урожайность хлопчатника повысилась с 2,2 ц/га в контроле до 26,2 и 27,4 ц/га в вариантах с *B. subtilis* 23 против гоммоза и корневой гнили соответственно. Аналогичные положительные результаты по снижению поражаемости получены в опытах на озимой пшенице: самая высокая биологическая эффективность установлена в варианте с *B. subtilis* 23 и составила 60,4% на сорте «Крошка» в фермерском хозяйстве «BO'Z-SUV BIOZERNO» и 64,4% на сорте «Половчанка» в фермерском хозяйстве «SOF TABIAT AGRO». Урожайность пшеницы в контроле составила в выше указанных фермерских хозяйствах 6,1 и 6,9 ц/га соответственно, тогда как в варианте с использованием *B. subtilis* 23 – 33,4 ц/га и 34,2 ц/га соответственно. Таким образом, результаты 2-летних полевых испытаний позволяют нам предложить использование клеточной суспензии антагониста *B. subtilis* 23 как

способ предпосевной обработки семян для снижения поражаемости хлопчатника и пшеницы вредоносными болезнями.

Изучение влияния антагонистов на представителей азотфиксирующих свободноживущих и клубеньковых бактерий родов *Azotobacter* и *Rhizobium* установило, что антагонист *B. subtilis* 23 не ингибирует развитие представителей полезной почвенной микрофлоры.

Полученные результаты позволили нам рекомендовать для внедрения в сельском хозяйстве практическое предложение по технологии производства биопрепарата на основе изученного антагониста *B. subtilis* 23, и его применению способом предпосевной обработки семян.

Считаем, что цикл проведенных исследований настоящей работы представляет собой схему скрининга потенциальных агентов биоконтроля для создания и непрерывного пополнения банка данных хозяйственно ценных культур антагонистов различных фитопатогенов, с соответствующими рекомендациями о способах и методах применения изученных антагонистов и их метаболитов в определенных системах и условиях.

ВЫВОДЫ

1. Выделенные из пораженных тканей растений изоляты возбудителя гоммоза хлопчатника идентифицированы как *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, и имеют различия по биологическим и вирулентным свойствам: у сильно вирулентных штаммов 1, 2 и 3 протеолитическая активность и интенсивность гидролиза крахмала выше, чем у 4-го средне вирулентного и 5-го и 6-го слабо вирулентных изолятов.
2. Из 11 изолятов грибов рода *Fusarium*, выделенных их разных органов здорового и больного растения озимой пшеницы, а также из ризосферы, самым патогенным является *F. oxysporum*, снижавший всхожесть семян озимой пшеницы до 16,6%.
3. Выявлена связь между культурой – предшественником и поражаемостью озимой пшеницы корневой гнилью: наибольшая пораженность болезнью отмечена на полях, где предшествующими культурами были пшеница и хлопчатник, и составляла 24,1% и 21,3% соответственно.
4. Скрининг почвенных бактерий, обладающих антагонистическими свойствами против фитопатогенов, выявил высокую антагонистическую активность штамма *Bacillus subtilis* 23 по отношению к фитопатогенным микроорганизмам *Xanthomonas malvacearum*, *Rhizoctonia solani* и *Fusarium oxysporum*, вызывающим основные ранние болезни хлопчатника и озимой пшеницы.
5. Установлено, что *B. subtilis* 23 является продуцентом антибиотика Сурфактин, по токсическому действию вызывающего дезорганизацию клеток фитопатогенов. Единица антибиотической активности экстракта эквивалентна 85 мкг выделенных антибиотических веществ, а 1 мл экстракта содержит 11,8 единиц антибиотической активности.

6. Использование бактериального штамма *B. subtilis* 23 способствует снижению пораженности хлопчатника гоммозом с 92,5% в контроле до 37,5%; корневой гнилью с 97,6% в контроле до 35,2%, а также снижению пораженности озимой пшеницы корневой гнилью с 94,8% и 93,4% в контроле до 37,5 и 33,2% на сортах «Крошка» и «Половчанка» соответственно.
7. Биологическая эффективность использования клеточной суспензии антагониста *B. subtilis* 23 способом предпосевной обработки семян в полевых испытаниях составила: против гоммоза хлопчатника – 59,4%; против корневой гнили хлопчатника – 63,9%; против корневой гнили пшеницы – 60,4% и 64,4% на сортах «Крошка» и «Половчанка» соответственно.
8. Результаты показали, что бактерия - антагонист *B. subtilis* 23 не оказывает ингибирующего действия на развитие азотфиксирующих представителей полезной почвенной микрофлоры.
9. Для внедрения в сельском хозяйстве рекомендовано практическое предложение по технологии производства и применению биопрепарата с использованием изученного антагониста *B. subtilis* 23. Биопрепарат рекомендуем применять способом предпосевной или заблаговременной (за 1-1,5 месяца) обработки семян его суспензией со следующей нормой расхода: 1) предпосевная обработка: 3,0 – 4,0 кг на тонну семян; 2) заблаговременная обработка: 0,5-1,0 кг на тонну семян.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Обзорная статья

1. Маннанов Р.Н., Саттарова Р.К. Об антибиотических веществах продуцируемых культурами рода *Bacillus* // Журнал Химия природных соединений АН РУз.- Ташкент 2001.- №2.- С.103-108.

Журнальные статьи

2. Safiyazov J.S., Mannanov R.N., Sattarova R.K. The use of bacterial antagonists for the control of cotton diseases // Field Crops Research, Elsevier Science.- Amsterdam, 1995.-V.43.-P.51-54.

3. Сафязов Ж.С., Маннанов Р.Н. Бациллы – продуценты антибиотических веществ против фитопатогенных микроорганизмов // Доклады Академии Наук РУз.- 1997.-№8.-С.39-42.

4. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Бактерии – антагонисты фитопатогенов на хлопчатнике // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2000.- №9.- С.51.

5. Хакимова Н.Т., Саттарова Р.К., Абдуазимова Ж.И., Маннанов Р.Н. Антагонистические взаимоотношения некоторых почвенных сапрофитных бактерий с возбудителями болезней растений // Журнал Вестник аграрной науки Узбекистана.- ТашГАУ.- Ташкент, 2000.- №2.- С.49-51.

6. Mannanov R.N. Saprophyte strains of genus *Pseudomonas* in the collection of microorganisms in Uzbekistan // USFCC Newsletter.- Kalamazoo, 2001.- V.31.- N1.- P.4.
7. Маннанов Р.Н. Гуза касалликларни биологик услуб билан химоялаш // Журнал Узбекистон аграр фани хабарномаси.- ТашГАУ.- Ташкент, 2001.- №2(4).- B.103-104.
8. Хакимова Н.Т., Маннанов Р.Н. Микофлора больных растений пшеницы // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2001.- N12.- С.35.
9. Хакимова Н.Т., Саттарова Р.К., Абдуазимова Ж.И., Маннанов Р.Н. Протравители против корневой гнили // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2003.- N3.- С.18.
10. Саттарова Р.К., Рахимов У.Х., Хакимова Н.Т., Ахтямова Н.И., Маннанов Р.Н., Шарипов С.М. Стимулирующее действие био-агентов и вермикулита на всхожесть, развитие и урожайность огурца // Журнал Вестник аграрной науки Узбекистана.- ТашГАУ.- Ташкент, 2003.- №1(11).- С.45-48.
11. Маннанов Р.Н. Возрастная устойчивость хлопчатника к гоммозу // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2004.- N5.- С.50.
12. Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т., Маннанов Р.Н. Бактерии – антагонисты и протравители против корневой гнили пшеницы // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2005.- N7.- С.28.
13. Sattarova R., Sheraliev A., Rakhimov U., Mannanov R., Khakimova N. Microbial cultures against agricultural phytopathogens // USFCC Newsletter.- Alameda, 2006.- V.33. – N1.- P.3.
14. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Сравнительная вирулентность изолятов *Xanthomonas malvacearum* на хлопчатнике // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2006.- N10.- С.34-35.
15. Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т., Маннанов Р.Н., Саидганиева З. Морфокультуральные особенности *Xanthomonas malvacearum* // Журнал Вестник аграрной науки Узбекистана.- ТашГАУ.- Ташкент, 2006.- №3(25).- С.7-12.
16. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н., Хакимова Н.Т. Сравнительная микофлора ризосферы здоровой пораженной корневой гнилью пшеницы // Журнал Защита и карантин растений. – Москва, 2007.- N10.- С.41.
17. Маннанов Р.Н., Саттарова Р.К. Использование бактерий-антагонистов против фитопатогенов хлопчатника и пшеницы // Журнал Вестник аграрной науки Узбекистана.- ТашГАУ.- Ташкент, 2008.- №2(32).- С.25-28.
18. Mannanov R.N. Inhibition of cotton pathogens by natural antagonists // IOBC/wprs Bulletin.- Montfavet Cedex, France, 2009.- Vol.43.- P.255-258.

Статьи в сборниках научных трудов

19. Mannanov R.N., Sattarova R.K. Inhibition of cotton phytopathogens by natural antagonists // 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, Evora, Portugal, September 17-20, 2001.- Proceedings.- P.477-479.

20. Mannanov R.N. The use of natural bio-agents for the control of cotton phytopathogens // 15th Forum of Applied Biotechnology, Gent, Belgium, September 24-25, 2001.- Proceedings.- P.183-186.

21. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Культурально-морфологические особенности возбудителя гоммоза хлопчатника *Xanthomonas malvacearum* // «Фуза ва кузи бугдойни парваришлаш агротехнологияларини такомиллаштириш» Халқаро илмий - амалий конференция маърузаларнинг туплами, Тошкент, УзПИТИ, 24-25 декабр, 2003.- Б.251-253.

Тезисы докладов

22. Mannanov R.N. Biological control of cotton phytopathogens using bacterial antagonists // 7th International symposium on the microbiology of aerial plant surfaces, Berkeley, USA, August 3-8, 2000.- Abstracts.- P.92.

23. Sattarova R.K., Khakimova N.T., Mannanov R.N. Fungal diseases on wheat under conditions of irrigated agriculture in Uzbekistan // 7th International symposium on the microbiology of aerial plant surfaces, Berkeley, August 3-8, 2000.- Abstracts.- P.93.

24. Safiyazov J.S., Mannanov R.N., Sattarova R.K. Grouping of microconidia of *Fusarium oxysporum* var. *vasinfectum* inhibited with antibiotic substances produced by *Bacillus subtilis* strains. // 7th International symposium on the microbiology of aerial plant surfaces, Berkeley, USA, August 3-8, 2000.- Abstracts.- P.91.

25. Маннанов Р.Н., Аббасова С.С. Изучение вирулентности изолятов *Xanthomonas malvacearum* путем искусственного заражения хлопчатника. // «Научные основы развития сельского хозяйства» Тез. докл. Респ. науч.-практич. конф., Ташкент, ТашГАУ, 4-5 мая 2001.- С.201-202.

26. Маннанов Р.Н. Гуза касалликларни биологик услуб билан химоялаш // «Узбекистон Мустақиллиги - Унинг фани ва технологияларини ривожлантириш кафолати» 5-чи Республика илмий конференцияси, маърузаларининг тезислари. ТошДАУ. 2001.- Б.296-298.

27. Mannanov R.N., Sattarova R.K. Inhibition of microconidia of *F. oxysporum* var. *vasinfectum* with antibiotic substances from *Bacillus subtilis* // 7th International Mycological Congress, Oslo, Norway, August 11-17, 2002.- Abstracts.- P.256.

28. Khakimova N.T., Sattarova R.K., Mannanov R.N. Fungal pathogens in soils under wheat in conditions of irrigated agriculture in Uzbekistan // 17th World Congress of Soil Science, Thailand, August 14-21, 2002.- Abstracts.- P.291.

29. Хақимова Н.Т., Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Влияние культуральной жидкости *Bacillus subtilis* на всхожесть, рост и развитие семян пшеницы // «Аграрная наука: достижения и перспективы» Тез. докл. межд. науч.-практич. конф., Ташкент, ТашГАУ, 1-2 мая 2002.- С.255-256.

30. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Влияние возраста растений хлопчатника на их устойчивость к возбудителю гоммоза *Xanthomonas malvacearum* // «Углубление интеграции образования, науки и производства в сельском хозяйстве Узбекистана» Тез. докл. межд. науч.-практич. конф., Ташкент, ТашГАУ, 23-25 апреля 2003.- С.82-83.

31. Саттарова Р.К., Рахимов У.Х., Хакимова Н.Т., Маннанов Р.Н. Использование бактерий-антагонистов для увеличения продуктивности сельскохозяйственных культур // «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии» Тез. докл. науч. конф. посв. памяти Аскаровой Салимы Аскарловны, Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, 21-22 октября 2003г.- С.73.

32. Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н., Рахимов У.Х. Влияние 10%-ной культуральной жидкости *B. subtilis* на всхожесть семян хлопчатника, урожайность и поражаемость гоммозом // «Аграрная наука и образование: Актуальные проблемы и перспективы развития» Тез. докл. науч.-практич. конф., Ташкент, ТашГАУ, 25-26 ноября, 2004.- С.484-485.

33. Sattarova R.K., Mannanov R.N. Antibiotic compounds produced by *Bacillus subtilis* // 6 Int. Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (SCNC), Ankara, Turkey, June 28-29, 2005.- Abstracts.- P.32.

34. Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т., Маннанов Р.Н. Микрофлора ризосферы здоровых и больных растений пшеницы // Тез. докл. III Съезда микробиологов Узбекистана, Ташкент, 9-10 ноября 2005.- С.129.

35. Sattarova R.K., Khakimova N.T., Mannanov R.N. Diversity of fungal diseases in winter wheat fields under conditions of irrigated agriculture in Uzbekistan // 8th International Mycological Congress, Cairns, Australia, August 21-25, 2006.- Abstracts.- P.176.

36. Маннанов Р.Н., Тагабаев Д.Д. Эффективность использования бактерий - антагонистов против фитопатогенов хлопчатника // «Еш олимлар – кишлок хужалиги фани ва амалиетини юксалтиришда етакчи куч» Тез. докл. науч.-практич. конф., Ташкент, Мин. Сельского и Водн. Хоз-ва РУз, 2008.- С.224-225.

37. Mannanov R.N., Sattarova R.K. Inhibition of cotton pathogens by natural antagonists // Xth Meeting of the Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens" of the IOBC/WPRS, Interlaken, Switzerland, September 9-13, 2008.- Abstracts.-P.52.

38. Хакимова Н.Т., Саттарова Р.К., Маннанов Р.Н. Использование некоторых почвенных антагонистов в борьбе с корневой гнилью пшеницы // Материалы Республиканской научной конференции «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии», посвященной памяти известного научного и общественного деятеля академика А.Г. Халмурадова в связи с 70-летием, Ташкент, 23 октября 2009г. – С.95-96.

39. Хожиев Ш., Маннанов Р.Н., Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т. Бактерии-антагонисты против возбудителей болезней хлопчатника // Материалы Республиканской научной конференции «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии», посвященной памяти известного научного и общественного деятеля академика А.Г. Халмурадова в связи с 70-летием. Ташкент, 23 октября 2009г. – С.97-98.

Биология фанлари доктори илмий даражасига талабгор
Рустам Нигматович Маннанов 06.01.11. – Ўсимликларни химоя қилиш
ихтисослиги бўйича

**«ҒЎЗАНИНГ АСОСИЙ КАСАЛЛИКЛАРИ (ГОММОЗ, ИЛДИЗ ЧИРИШ,
ФУЗАРИОЗ) ВА БУҒДОЙНИНГ (ИЛДИЗ ЧИРИШ) КАСАЛЛИГИНИ
КЎЗГАТУВЧИ БАЪЗИ ФИТОПАТОГЕНЛАРНИ ТУПРОҚ
АНТАГОНИСТЛАРИ БИЛАН ЎЗАРО МУНОСАБАТЛАРИ»
мавзусидаги диссертациясининг**

РЕЗЮМЕСИ

Таянч сўзлар: ғўза, буғдой, фитопатогенлар, антагонизм, ўсимликларни
биологик химоялаш, *Bacillus subtilis*

Тадқиқот объектлари: Микроб-антагонистлар ва улар ҳосил қиладиган
антибиотик моддалар, фитопатоген микроорганизмлар, гоммоз ва илдиз бириш
касаллиги билан касалланган ғўза ҳамда илдиз чириш билан касалланган буғдой
ўсимлиги.

Ишнинг мақсади: Бактерия-антагонистларнинг фаол штамmlарини
скрининги ва комплекс биологиясини ўрганиш ҳамда ғўза ва буғдойнинг зарарли
касалликларини кўзгалувчилар билан ўзаро муносабатлари устида тадқиқотлар
ўтказилди. Тадқиқотлар натижасида сараланган бактерия штамmlари ва уларнинг
антагонистик фаоллиги механизми хақида олинган маълумотларни экологик
хавфсиз биопрепаратлар ишлаб чиқишда қўллашга, кишлок хўжалик экинларининг
касалликларини кўзгалувчи фитопатогенларни камайтиришга ва уларнинг ҳосилини
оширишга мўлжалланган.

Тадқиқот методлари: Микробиологик, биокимёвий ва дала усулларидан
фойдаланилди. Касаллик кўзгалувчиларнинг тарқалиши ва зарари,
микроорганизмларни ажратиш, антагонист-микробларнинг антагонистик
хусусиятларини ўрганиш, антагонистлар ҳосил қиладиган моддаларнинг
хусусиятларини, ғўза ва буғдой уруғларини экишдан олдин антагонистларнинг
хужайра суспензияси билан ишлов бериш натижасида ўсимликларни
фитопатогенлар билан зарарланишини камайиши ва уларнинг ҳосилини ошишига
таъсири дала тажрибаларида ўрганилди. Тадқиқот натижаларини математик
тахлили В.А.Доспехов усулида аниқланди.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: Ўзбекистон шароитида ғўза ва
кузги буғдойни олдиндан зарарлаб келган замбуруғ ва бактерия фитопатогенларига
тупроқ антагонистларининг антагонистик ўзаро муносабатлари ўрганилди. Кузги
буғдойнинг илдиз чириш касаллиги билан зарарланган ва соғлом ризосферасидан

микофлора турлар таркиби аникланди. *Bacillus subtilis* 23 штаммини хосил киладиган антибиотик моддасининг токсинлик таъсири ва табиий хусусияти аникланди. Фойдали тупрок микрофлорасига антагонистларнинг карши таъсири йўқлиги аникланди. Ўсимликларни химоя килишда *B. subtilis* 23 штаммини қўллашнинг самаралилиги, экологик хавфсиз комплекс биопрепарат эканлиги исботланди.

Амалий ахамияти: Ўтказилган тадқиқот натижаларига кўра самарали ва экологик тоза биопрепарат *B. subtilis* 23 антагонистини қўллаш ва ишлаб чиқиш технологияси бўйича амалий тавсиялар ишлаб чиқилди.

Тадбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: Ўрганилган *B. subtilis* 23 биопрепаратини қўллаш ва ишлаб чиқариш технологияси бўйича амалий тавсиялар берилган. Дала шаронтида уруғларни экишдан олдин *B. subtilis* 23 штаммини хужайра суспензиясини қўллашнинг биологик самарадорлиги ғўзанинг гоммоз касаллигида - 59,4%, ғўзанинг илдиз чириш касаллигида - 63,9%, буғдойнинг илдиз чириш касаллигида 60,4% ва 64,4% “Крошка” ва “Половчанка” навларида ташкил этди.

Қўлланиш соҳаси: Олинган натижаларни микробиология, биокимё, фитопатология, пахтачилик, дончилик ва баъзи бошқа кишлок хўжалиги соҳаларида қўллаш мумкин.

Р Е З Ю М Е

диссертации Рустама Нигматовича Маннанова на тему:
**«ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ПОЧВЕННЫХ АНТАГОНИСТОВ С
НЕКОТОРЫМИ ФИТОПАТОГЕНАМИ, ВЫЗЫВАЮЩИМИ ОСНОВНЫЕ
БОЛЕЗНИ ХЛОПЧАТНИКА (ГОММОЗ, КОРНЕВАЯ ГНИЛЬ, ФУЗАРИОЗ) И
ПШЕНИЦЫ (КОРНЕВАЯ ГНИЛЬ)»**
на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности:
06.01.11. – Защита растений

Ключевые слова: хлопчатник, пшеница, фитопатогены, антагонизм, биологическая защита растений, *Bacillus subtilis*

Объекты исследования: Микробы-антагонисты и продуцируемые ими антибиотические вещества, фитопатогенные микроорганизмы, растения хлопчатника пораженные гоммозом и корневой гнилью, растения пшеницы пораженные корневой гнилью.

Цель работы: Скрининг и комплексное биологическое изучение активных штаммов бактерий – антагонистов, а также исследование их взаимоотношений с возбудителями вредоносных болезней хлопчатника и пшеницы. Отобранные в результате данной работы штаммы бактерий и полученные сведения о механизмах их антагонистической активности предполагается использовать для разработки экологически безопасных биопрепаратов, снижающих поражаемость сельскохозяйственных культур вредоносными фитопатогенами, и повышающих их урожайность.

Методы исследования: Использовались микробиологические, биохимические и полевые методы исследований: распространение и вредоносность возбудителей болезней, выделение и культивирование микроорганизмов, изучение антимикробных свойств антагонистов, природа антибиотических веществ продуцируемых антагонистами, полевые испытания действия предпосевной обработки семян хлопчатника и пшеницы клеточной суспензией антагонистов на снижение поражаемости растений фитопатогенами и увеличение их урожайности. Результаты исследований подвергались статистической обработке по методике В.А. Доспехова.

Полученные результаты и их новизна: При выполнении настоящей работы получен ряд новых сведений об антагонистических взаимоотношениях почвенных антагонистов с грибными и бактериальными фитопатогенами, поражающими хлопчатник и озимую пшеницу в условиях Узбекистана. Установлен видовой состав микобиоты ризосферы здоровой и пораженной корневой гнилью озимой пшеницы. Определены природа и характер токсического действия антибиотических

веществ, продуцируемых *B. subtilis* 23. Установлено отсутствие отрицательного воздействия антагонистов на представителей полезной почвенной микрофлоры. Доказана перспективность использования штамма *B. subtilis* 23 для разработки эффективных, экологически безвредных комплексных биопрепаратов для защиты растений.

Практическая значимость: По результатам проведенных исследований разработано практическое предложение по технологии производства и применению эффективного и экологически чистого биопрепарата с использованием изученного антагониста *B. subtilis* 23.

Степень внедрения и биологическая эффективность: Рекомендовано практическое предложение по технологии производства и применению биопрепарата с использованием изученного антагониста *B. subtilis* 23. Биологическая эффективность использования клеточной суспензии антагониста *B. subtilis* 23 способом предпосевной обработки семян в полевых испытаниях составила: против гоммоза хлопчатника – 59,4%; против корневой гнили хлопчатника – 63,9%; против корневой гнили пшеницы – 60,4% и 64,4% на сортах «Крошка» и «Половчанка» соответственно.

Область применения: Полученные результаты исследований могут быть применены в области микробиологии, биохимии, фитопатологии а также в хлопководстве, зерноводстве и некоторых других отраслях сельскохозяйственного производства.

RESUME

**Thesis of Rustam Nigmatovich Mannanov
on the scientific degree competition of the doctor of sciences in Biology,
speciality: 06.01.11. – Plant protection, subject: “INTERACTIONS OF SOIL
ANTAGONISTS WITH SOME PHYTOPATHOGENS CAUSING MAJOR
DISEASES OF COTTON (GOMMOSIS, ROOT ROT, FUSARIUM) AND WHEAT
(ROOT ROT)”**

Key words: cotton, wheat, phytopathogens, antagonism, biological control of plants, *Bacillus subtilis*

Subjects of research: Microbial antagonists and antibiotic substances produced by them, phytopathogenic microorganisms, cotton plants infected by gommosis and root rot, wheat plants infected by root rot.

Purpose of work: Screening and complex biological study of active strains of bacterial antagonists, as well as investigation their interactions with infections of harmful diseases of cotton and wheat. Bacterial strains, selected in result of this research, as well as obtained knowledge on mechanisms of their antagonistic activity will be used in future for developing effective, ecologically safe biological products for decreasing infection of agricultural crops by injurious phytopathogenic microorganisms, and for increasing crop yield.

Methods of research: There were used microbiological, biochemical and field methods of investigation: diversity and pathogenicity of infection, isolation and cultivation of microorganisms, study of antimicrobial features of antagonists, nature of antibiotic substances produced by antagonists, field trials on action of pre-sowing treatment of wheat and cotton seeds with cell suspension of antagonists on decrease of infection of plants by phytopathogens as well as increase of their yield. Results of investigation were processed through statistic calculation by methods of V.A. Dospikhov.

The results obtained and their novelty: Carried out research had discovered new data on antagonistic interactions of soil antagonists with fungal and bacterial phytopathogens infecting cotton and winter wheat under conditions of Uzbekistan. The microflora of rhizosphere of robust and infected by root rot winter wheat had been studied. The nature and toxic action of antibiotic substances produced by *B.subtilis* 23 had been determined.

There shown the absence of negative effect of antagonists on representatives of useful soil microflora. Prospective of the use of strain *B. subtilis* 23 for developing effective, ecologically safe complex biological products for crop protection had been proven.

Practical value: Basing on the results from study there had been developed the practical offer on technology of the production and application of effective and ecologically safe bio product using studied antagonist *B. subtilis* 23.

Degree of embed and biological effectivity: There had been recommended the practical offer for technology of production and application of bio product using studied antagonist *B. subtilis* 23. Biological efficacy from the use of cell suspension of antagonist *B. subtilis* 23 by method of pre-sowing seed treatment under field conditions had been: against gommosis of cotton – 59,4%; against cotton root rot – 63,9%, against root rot of wheat – 60,4% and 64,4% on winter wheat varieties “Croska” and “Polovchanka” respectively.

Sphere of usage: Obtained results can be applied in fields of microbiology, biochemistry, phytopathology, as well as in cotton industry, grain industry and some other fields of agricultural production.

Заказ № 305
Подписано в печать 24.11.10.
Печатный лист 1/16 Тираж 130
Отпечатано в УП «Building Print»